



THE LIBRARY
OF
THE UNIVERSITY
OF CALIFORNIA
DAVIS

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

Zweite Abteilung. 42. Band

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie,
Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. O. Appel, Biologische Anstalt zu Berlin-Dahlem, Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. J. Behrens, Direktor der biologischen Anstalt zu Berlin-Dahlem, Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft, Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Delbrück in Berlin, Alb. Klöcker, extr. Vorsteher, Carlsberg-Laboratorium in Kopenhagen, Prof. Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädenswil, Prof. Dr. M. C. Potter, Durham College of Science, New-Castle-upon-Tyne, Prof. Dr. Samuel C. Prescott in Boston, Dr. Rommel in Berlin, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr., Prof. van Laer in Gand, Prof. Dr. C. Wehmer in Hannover, Prof. Dr. Weigmann in Kiel und Prof. Dr. Winogradsky in Petersburg

herausgegeben von

Geh. Reg.-Rat
Prof. Dr. Oscar Uhlworm und Prof. Dr. F. Löhnis
in Berlin in Washington D. C.

42. Band

Mit 5 Tafeln und 84 Figuren im Texte



Jena
Verlag von Gustav Fischer
1915

Die Stellung von *Azotobacter* im System.

[Aus dem Bakteriologischen Laboratorium des Landwirtschaftlichen Instituts der Universität Leipzig.]

Von Dr. F. Löhnis, Washington D. C. (Ref.) und Prof. J. Hanzawa, Sapporo.

Mit 2 Tafeln.

Über die Stellung von *Azotobacter* im System gingen bisher die Ansichten sehr weit auseinander. Man vermutete einerseits verwandtschaftliche Beziehungen zu gewissen Algen¹⁾, andererseits zu den Aktinomycceten²⁾. Bei den ziemlich ausgedehnten Untersuchungen, die der Referent vor einigen Jahren in Leipzig mit dem jetzigen Direktor des Agricultural Department von Travancore, Herrn Dr. N. K. Pillai, sowie mit Herrn Prof. T. Westermann aus Kopenhagen über verschiedene Stickstoff fixierende Organismen, insbesondere auch über 21 *Azotobacter*-Stämme verschiedener Herkunft durchzuführen Gelegenheit hatte³⁾, ergaben sich sowohl in morphologischer wie in kultureller Hinsicht mancherlei interessante Parallelismen zwischen *Azotobacter* und verschiedenen Sporenbildnern der *Mesentericus*-Gruppe (*Bac. malabarensis* und *danicus*). Endosporen waren aber in den *Azotobacter*-Kulturen niemals zu entdecken. Der einzige, der bisher von positiven Befunden in dieser Richtung Mitteilung machte, war E. Mencil⁴⁾. Indessen lassen die betreffenden Darlegungen manchem Zweifel Raum. Die Hitzebeständigkeit der fraglichen Gebilde wurde nicht festgestellt; ebenso fehlen Angaben über deren Auskeimen. Da sie zudem zu mehreren in einer Zelle gebildet worden sein sollen, dürfte es sich wohl eher um das gehandelt haben, was Prazmowski⁵⁾ als Regenerationsformen beschrieben hat. Die ausgezeichneten *Azotobacter*-Studien dieses Forschers haben mit Sicherheit erwiesen, daß tatsächlich Sporen gebildet werden, die aber den Charakter von Arthrosporen tragen. Die den Bazillen eigentümlichen typischen Endosporen wurden dagegen auch in diesem Falle vermißt. Die Arbeiten Arthur Meyers und seiner Schüler haben jedoch gezeigt, daß gerade bei den Bazillen neben der Bildung von Endosporen auch die von Arthrosporen-artigen Zellformen recht häufig ist. Und G. Bredemann⁶⁾ hat dann bei seinen überaus gründlichen Untersuchungen über *Bac. amylobacter* aërobe, kokken- und sarcina-artige, sporenfreie Wuchsformen

¹⁾ Beijerinck, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 7. 1901. p. 577; W. Bennecke u. Keutner, Ber. d. deutsch. bot. Gesellsch. Bd. 21. 1903. p. 333; K. B. Lehmann, Grundriß der Bakteriologie, 5. Aufl. 1912. p. 89.

²⁾ Peklo, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 27. 1910. p. 506.

³⁾ Löhnis u. Pillai, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 19. p. 87; Löhnis u. Westermann, ebenda. Bd. 22. 1908. p. 234.

⁴⁾ Arch. f. Protistenk. Bd. 22. 1911. p. 13 ff.

⁵⁾ Anz. d. Akad. Krakau. Mathem.-naturw. Kl. [B.] 1911. p. 739; 1912. p. 87 u. 855.

⁶⁾ Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 23. 1909. p. 385.

dieser von Haus aus anaëroben, sporenbildenden Bazillenart erhalten, die wiederum sehr an *Azotobacter* erinnerten.

Eine ganze Reihe von Anhaltspunkten lag somit vor, die zu der Vermutung hinleiteten, es bestehe eine Verwandtschaft zwischen *Azotobacter* und gewissen sporenbildenden Bazillen. Trotzdem war die Überraschung nicht gering, als sich im Jahre 1911 bei der Prüfung der von früher her fortgezüchteten *Azotobacter*-Stammkulturen, von denen Herr Prof. Prazmowski Abimpfungen erbeten hatte, herausstellte, daß 2 dieser Gläschen schlanke, sporenbildende Bazillen enthielten. Die Annahme, daß es sich hierbei um Verunreinigungen handelte, die im Laufe der Zeit die Originalkulturen überwuchert hatten, war natürlich nicht von der Hand zu weisen. Immerhin schien es mit Rücksicht auf jene anderen Beobachtungen zweckmäßig zu sein, auch diese Kulturen fortzuzüchten, um sie gelegentlich genauer prüfen zu können. Ein paar Monate später waren wenigstens einige Versuche in dieser Richtung möglich, die u. a. zu dem interessanten Ergebnis führten, daß die fraglichen Kulturen dann sehr bald in die für *Azotobacter* typische, große, sporenfreie Wuchsform übergingen, wenn sie zusammen mit *Bact. Radiobacter* (dem ständigen Begleiter des *Azotobacter* im Erdboden) in Mannit-Erddextrakt eingepflegt wurden. Im gleichen Substrat waren früher die *Azotobacter*-artigen Wuchsformen des *Bac. malabarensis* und des *Bac. danicus* beobachtet worden¹⁾. Da es dem Berichterstatter an der nötigen Zeit zur Fortsetzung dieser Studien fehlte, hatte Herr Dr. Ambrož in Prag die Freundlichkeit, sich zu einer eingehenderen Bearbeitung der Frage bereit zu erklären. Leider scheinen sich indessen auch hier Hindernisse eingestellt zu haben; es war wenigstens nicht möglich, durch briefliche Anfrage etwas über den Fortgang der Untersuchungen in Erfahrung zu bringen. Um so willkommener war es, daß sich Herr Prof. Hanzawa der für ihn als Botaniker besonders naheliegenden Angelegenheit annahm und sie während seines Aufenthalts in Leipzig (im Wintersemester 1913/14) wenigstens bis zu einem gewissen Abschluß brachte. Es steht jetzt fest, daß in der Tat die großen, sporenfreien *Azotobacter*-Zellen Wuchsformen eines schlanken, Endosporen bildenden *Bacillus* sind. *Bacillus Azotobacter* ist demnach die korrekte Bezeichnung für diese Art.

Prazmowski hat sich dahin ausgesprochen, daß vielleicht bis auf *Azotobacter vitreum* alle weiß, gelb, grün, braun oder schwarz wachsenden Stämme als Varietäten einer Art zu betrachten seien. Die außerordentlich große Variationsbreite des *Azotobacter* macht es in der Tat sehr wahrscheinlich, daß diese Ansicht das Richtige trifft. Aus den weiteren Darlegungen wird überdies zu erschen sein, daß *Azotobacter vitreum* ebenfalls zur Bildung von deutlichen Stäbchenformen und von Endosporen zu bringen ist. Die bisherigen Artennamen würden somit in Zukunft zur Kennzeichnung der verschiedenen Varietäten der Spezies *Bacillus Azotobacter* zu verwenden sein.

Wie gesagt, haben sich schon früher mancherlei Eigentümlichkeiten herausgestellt, die auch in der *Mesentericus*-Gruppe zu finden sind. Neben farblosen kommen hier gleichfalls gelbe, schwarze und grün-fluoreszierende Formen vor. Es ist durchaus nicht unwahrscheinlich, daß sich bei noch eingehenderer Prüfung vielleicht diese oder jene *Azoto-*

¹⁾ Vgl. die betr. Abbildungen auf den den zit. Arbeiten beigegebenen Tafeln: Löhnis u. Pillai, Fig. 3; L. u. Westermann, Fig. 2.

bacter-Kultur als identisch mit einer schon immer als sporenbildend bekannten Art erweisen wird. Die Befähigung zur Stickstoffbindung ist bekanntlich unter den hier in Betracht kommenden Bazillen ebenfalls recht verbreitet.

Hoffentlich finden diese Untersuchungen von anderer Seite bald die erwünschte weitere Ausgestaltung, die wir ihnen anderer Aufgaben wegen selbst nicht geben können.

Folgende 11 *Azotobacter*-Kulturen wurden geprüft:

1. *Azotobacter chroococcum*, Stamm Ohio (14),
2. „ „ „ „ aus einer sporenbildenden Kultur regeneriert,
3. „ *Beijerinckii* (18), typische Form,
4. „ „ sporenbildende Kultur von 1909,
5. „ „ „ von 1912,
6. „ „ sporenfreie Stäbchenform von 1912,
7. „ *Vinelandii*, Stamm New Jersey (16),
8. „ *vitreum*, Stamm Leipzig 1904 (20),
9. „ „ Stamm Leipzig 1907 (21),
10. „ *chroococcum*, Stamm Krakau, weiß,
11. „ „ „ „ schwarz.

Bis auf die beiden an letzter Stelle aufgeführten Kulturen, die wir der Freundlichkeit des Herrn Prof. Prazmowski zu verdanken haben, handelt es sich in allen Fällen um Nachzuchten der im Jahre 1908 eingehend untersuchten *Azotobacter*-Stämme. Die in Klammern beigefügten Zahlen entsprechen denjenigen in der damals publizierte Arbeit¹⁾. Mit den unter No. 3—6 aufgeführten Stämmen hat es folgende Bewandnis. Die Nachzucht des *Azotobacter Beijerinckii* von 1908 lieferte im Jahre 1912 fast nur schlanke Stäbchenformen, von denen eine Kolonie mit unregelmäßigem Rande reichliche Sporen bildete (No. 5), während eine andere, deren Rand ziemlich glatt war, dies nicht tat (No. 6). Glücklicherweise war eine im Jahre 1909 angelegte Kultur in einem luftdicht verschlossenen Glase in der Sammlung vorhanden, die seinerzeit mit anderen Kulturen auf einer Ausstellung vorgeführt worden war, sich aber auch noch im Jahre 1912 voll lebensfähig erwies. Gleich die erste Gußkultur lieferte eine überraschend große Zahl ganz normaler *Azotobacter*-Kolonien (No. 3), außerdem aber vereinzelt auch solche Kolonien (No. 4), wie sie die Nachzucht von 1912 ausschließlich entstehen ließ.

Gleichzeitig mit den verschiedenen *Azotobacter*-Kulturen wurden auch die Nachzuchten des *Bac. malabarensis* (von 1907), des *Bac. danicus* (von 1908), sowie der beiden 1910 von dem leider allzu früh verstorbenen Prof. Shigehiro Suzuki²⁾ in dem Leipziger Laboratorium des Berichterstatters isolierten Stämme A und B der zuletzt genannten Art einer entsprechenden Nachprüfung unterzogen.

Neben Mannit-Erdextrakt, Mannit-Erdextrakt-Agar, Fleischagar, Fleischgelatine, Bouillon, Milch und Kartoffel verwendeten wir (zu den Versuchen über Pigmentbildung) auch das von Omelianski³⁾ in Vorschlag gebrachte Dextrin-Kreide-Agar, sowie (zu den Umwandlungsversuchen) Mannit-Erdextrakt in sehr flacher Schicht, dem eine größere Menge sterilisierter Erde

¹⁾ Löhnis u. Westermann, l. c. p. 234. Die Kulturen haben wir an Králs Bakteriologisches Museum in Wien abgegeben.

²⁾ Löhnis u. Suzuki, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 30. 1911. p. 647.

³⁾ Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 29. 1911. p. 643. Statt Leinextrakt benutzten wir auch für dieses Agar Erdextrakt.

beigegeben war¹⁾. Der Nachweis, daß echte Endosporen vorlagen, wurde sowohl auf mikroskopischem Wege durch Färbung²⁾ und durch die Feststellung des Auskeimens wie auch durch Anwendung des Erhitzungsverfahrens erbracht.

Die wichtigsten der bei unseren Untersuchungen erlangten Einzelbefunde sind etwa die folgenden.

1. *Azotobacter chroococcum*, Stamm Ohio, Nachzucht von 1908. Die Kultur wurde seit 1908 ungefähr alle 4 Monate auf Mannit-Erdextrakt-Agar übergeimpft. 1912 erwies sie sich als zum größten Teile aus ovalen Zwergformen und vereinzelt als aus schlanken sporenbildenden Stäbchen bestehend. Die letzteren lieferten die Kultur 2, während Kultur 1 aus einer nur Zwergformen enthaltenden Kolonie herrührt.

Form und Größe. 1908 waren die Doppelkokken und Kurzstäbchen gewöhnlich 1–2 μ breit und 1,5–3 μ lang, mitunter fanden sich Fäden bis 50 μ Länge. 1914 war (ebenso wie 1912) die Form zwar unverändert, die Größe aber auf 0,7 μ in der Breite und 1,2 μ in der Länge zurückgegangen (Taf. I, Fig. 1). In Mannit-Erdextrakt nahm zwar die Größe, namentlich bei Anwesenheit von *B. Radiobacter* etwas zu, doch ging sie auch dann nicht über 1 μ in der Breite und 1,8 μ in der Länge (der einzelnen Zellen) hinaus. Auf der Kartoffel entstanden lange, dünne Fäden.

Sporenbildung war nicht zu beobachten.

Form und Struktur der Kolonien auf Mannitagar waren typisch, doch trat Gelbfärbung ein.

Ebenso war z. T. sehr intensive Gelbfärbung zu beobachten, auf Fleischagar und besonders auf Kartoffel. Die normale Braun- oder Schwarzfärbung konnte auch nicht durch 10-mal wiederholte Überimpfung auf Dextrin-Kreide-Agar wiederhergestellt werden.

Auf Gelatine blieb die Entwicklung gering; Verflüssigung trat (im Gegensatz zu 1908) nicht ein. Ebenso wurde die Milch jetzt nicht aufgehellt. Die Bouillon blieb klar.

2. *Azotobacter chroococcum*, Stamm Ohio, 1912 regeneriert. 1912 als schlanke, sporenbildende Stäbchen von Kultur 1 abgezweigt und durch Kultur in Mannit-Erdextrakt in die frühere Wuchsform zurückverwandelt. Doch kam es seither nicht wieder zur Ausbildung des schwarzen Pigmentes.

Form und Größe auf Mannitnährböden, kurze dicke Stäbchenformen 1–2,4 μ breit, 2–7 μ lang (Taf. I, Fig. 4), auf Fleischagar in jungen Kulturen sehr dünne lange Stäbchen (Taf. I, Fig. 3), die später teils zu sehr langen dünnen Fäden (von 0,6 μ Breite und mehr als 100 μ Länge), teils zu großen (bis 2,2 μ dicken), nicht gut färbaren Gebilden heranwachsen. In Mannit-Erdextrakt waren Streptokokken-artige Verbände häufig.

Sporenbildung war 1912 sehr deutlich zu konstatieren (Taf. I, Fig. 2). Die Keimung erfolgte meist polar, mitunter schräg.

Form und Struktur der Kolonien auf Mannitagar waren typisch, doch blieb hier wie in allen anderen Fällen jede Pigmentbildung aus. Auch fortgesetzte Kultur auf Dextrin-Kreide-Agar rief sie nicht wieder hervor.

Auf Fleischagar entstanden grauweiße, glänzende, erhabene Beläge mit unebenem Rande. Im Kondenswasser war die Entwicklung besonders kräftig.

Im Gelatinestich trat geringes körniges Wachstum ein, die Auflage blieb klein; die Gelatine wurde sehr langsam verflüssigt.

Die Bouillon blieb klar. An der Oberfläche bildeten sich an der Glaswandung kleine Ansammlungen, die leicht zu Boden sanken.

Auf der Kartoffel waren die Beläge zunächst gelblichweiß, mattglänzend, etwas erhaben, schleimig, später wurden sie schmutzig rötlich-grauweiß, eiterähnlich, fadenziehend. Faltenbildung blieb aus.

Die Milch wurde allmählich aufgehellt und zeigte alkalische Reaktion.

3. *Azotobacter Beijerinckii*, typische Form. Bis auf 2 Ausnahmen stimmt das Verhalten, das dieser Stamm im Winter 1913/14 zeigte, durchaus mit dem überein, das wir im Sommer 1908 beschrieben haben. Abweichend

¹⁾ Wegen der Bereitung des Erdextraktes und der betr. Mannitnährböden vgl. die Angaben in meinem „Landw.-bakt. Praktikum“.

²⁾ Hanzawa, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 34. 1912. p. 172.

war zunächst das Wachstum auf der Kartoffel, auf der jetzt stark faltenbildende Beläge auftraten, die von weiß über gelblichweiß in dunkelbraun übergingen. Und ferner zeigte auch dieser Stamm jetzt deutliche Sporenbildung, von der 1912 noch nichts wahrzunehmen war.

Fig. 5 auf Taf. I zeigt die typischen *Azotobacter*-Formen von Mannitagar, Fig. 6 das gewöhnliche Bild einer Gelatinekultur, und Fig. 7 die einseitig zugespitzten Rübenformen (von Kartoffel), die allerdings vereinzelt auch schon in Fig. 5 zu sehen sind. Von dem bisher Bekannten abweichend ist dagegen Fig. 8, die schlanke Stäbchen und zahlreiche Sporen (von 1—1,8, meist 1,5 μ Breite und 1,5—2,4 μ , meist 2 μ Länge) zur Darstellung bringt. Sowohl von Mannitagar und Mannitlösung, wie von Fleischagar und Kartoffeln wurden reichliche Sporenmengen erhalten. Sie überstehen 2—4 Minuten langes Erhitzen auf 98° C und keimen in der Regel polar, selten schräg zur Längsrichtung aus.

4. *Azotobacter Beijerinckii*, sporenbildende Kultur von 1909. Dieser 1912 aus Kultur 3 isolierte Stamm, der damals im mikroskopischen Bilde genau so erschien wie Fig. 8 dies jetzt für jene Kultur zeigt, wurde seinerzeit gleichzeitig mit Kultur 2 in Mannit-Erdextrakt regeneriert.

In bezug auf sein Verhalten auf den verschiedenen Nährböden steht er der Kultur 2 sehr nahe, dagegen zeichnet er sich unter dem Mikroskop durch gedrungene, dicke Formen aus, die mitunter (infolge Polfärbung) ganz wie Streptokokken erscheinen (vgl. Taf. I, Fig. 9 u. 10). Außerdem hat er die Neigung zur Sporenbildung beibehalten (vgl. Fig. 12 u. 2). Die Maße und die Thermoresistenz der Sporen ist die gleiche wie in Kultur 3.

Die Kolonien erhalten, besonders wenn sie älter werden, einen unregelmäßig gezackten, teilweise mit Ausläufern versehenen Rand.

Abimpfungen von einer durch schwache Bräunung auf der Platte sich auszeichnenden Kolonie lieferten morphologisch gleiche Kulturen, die aber etwas weniger schleimig wuchsen und infolgedessen auf Agar und Kartoffeln kräftig gefaltete, Mesentericus-artige Beläge entstehen ließen. Hier kam es auch nicht nur zur Aufhellung, sondern zuvor zu deutlicher Koagulierung der Milch.

5. *Azotobacter Beijerinckii*, sporenbildende Kultur von 1912. Diese nunmehr 3 oder 4 Jahre in Stäbchenform wachsende Kultur konnte vor 2 Jahren, wie bereits gesagt wurde, noch relativ leicht wieder in die typische dicke Form umgewandelt werden, wie dies die (nach einem alten und schon ziemlich verblaßten Präparat von 1912 angefertigte) Fig. 13 auf Taf. I noch einigermaßen erkennen läßt. Neuerdings sind wir über die Form, wie sie Fig. 14 wiedergibt, nicht mehr hinausgekommen. Leider konnten Versuche mit *Radioacter*, die bei Kultur 6 die Rückverwandlung außerordentlich begünstigten, nicht mehr zur Ausführung gebracht werden.

Wie ebenfalls schon erwähnt worden ist, zeigten die Kolonien dieses Stammes unregelmäßig gezackte Ränder. Die Milch wurde erst koaguliert und danach aufgehellt. Das Wachstum war auf allen Substraten ziemlich kümmerlich. Eine gewisse Neigung zu anaerober Lebensweise trat unverkennbar hervor.

Die schlanken Stäbchen sind 1 μ breit und 1,8—2,4 μ lang, die dickeren Formen erreichen 1,4 μ Breite und 3,6 μ Länge; Fäden werden bis zu 18 μ lang. Die Maße für die Sporen sind 1 μ : 1,2—1,5 μ .

6. *Azotobacter Beijerinckii*, sporenfreie Stäbchenform von 1912. Dieser Stamm zeigte 1912 ebenfalls deutliche Stäbchenform, aber Sporen waren damals nicht zu sehen und die Kolonien wiesen das für *Azotobacter* charakteristische Aussehen auf, speziell war der Rand glatt, nicht unregelmäßig gezackt wie bei den Kolonien der Kultur 5.

Neuerdings waren jedoch ebenfalls Sporen vorhanden und der Rand der Kolonien ist jetzt unregelmäßiger als 1912. Wie damals waren auch jetzt die Stäbchen im allgemeinen schlanker als die der Kultur 5 (vgl. Fig. 16 und 17 gegenüber Fig. 15). Die Breitenmaße sind 0,6—1 μ , die Längenmaße 1,2—7,2 μ . Die Sporen messen 1—1,2 μ : 1,2—1,8 μ .

Das Wachstum war ähnlich dem Stamm 5 auf allen Substraten sehr kümmerlich. Die Milch wurde ohne Koagulierung aufgehellt.

In Mannit-Erdextrakt blieb die Stäbchenform, solange sie in Reinkultur geprüft wurde dauernd konstant (Fig. 17). Als aber in Erinnerung an die früheren Beobachtungen *Radioacter* beigegeben wurde, änderte sich das Bild in kürzester Zeit. Fig. 18 zeigt, wie sich beim Zusammenleben mit den kleinen *Radioacter*-Zellen die schlanken Stäbchen in die charakteristische große *Azotobacter*-Form umwandeln. Die Maße waren hier in der Regel 1,2—2,4 μ : 1,5—3 μ , doch erreichten die dickeren Wuchsformen 2—4,8 μ Breite und 3,6—7,2 μ Länge.

Bei der erneuten Reinzüchtung verringerten sich die Größendimensionen ziemlich rasch. Fig. 19 zeigt die schon wieder etwas schlanker gewordene Form aus einer Kolonie von der Mannit-Agar-Platte. In den Abimpfungen dominierte bald wieder die schlanke Stäbchenform.

7. *Azotobacter Vinelandii*, Stamm New Jersey. Sowohl morphologisch wie kulturell zeigte dieser Stamm fast noch genau die Eigenschaften, die wir vor 6 Jahren an ihm beobachtet hatten. An Material von Mannit-Agar oder Mannit-Lösung wurden als Größenverhältnisse $2-2,4 \mu : 2,4-4,8 \mu$ festgestellt, an den Stäbchen von Fleischagar oder Kartoffeln $1-1,2 \mu : 1,8-3 \mu$. (Taf. II, Fig. 20 und 21.)

Auf der Kartoffel waren zugespitzte, *Clostridium*-artige Gebilde nicht selten. Ebenso waren auf diesem Substrat (in alten Kulturen) nicht selten Zeileinschlüsse zu sehen, die wohl für Sporen gehalten werden konnten. Doch kam es in abgekochten Kulturen nicht zu einer deutlichen Weiterentwicklung.

8. und 9. *Azotobacter vitreum*, Stämme Leipzig 1904 und 1907. Auch diese beiden Kulturen haben sich nunmehr 10 resp. 7 Jahre hindurch so gut wie vollkommen konstant erhalten. Namentlich war die charakteristische, stets runde Form ausnahmslos erhalten geblieben (Taf. II, Fig. 22). Aber auch sie ist veränderungsfähig. Fig. 23 zeigt neben den runden Zellen, dicke lange Stäbchen aus einer Kartoffelkultur, und außerdem an 2 durch Pfeile markierten Stellen Gebilde, die ganz wie Endosporen aussehen. Doch haben diese Gebilde dem Erhitzen (auf 100°) nicht standgehalten.

Einige eigentümliche, wie kleine *Sarcina*-Pakete erscheinende Wuchsformen aus Mannit-Erdextrakt zeigt Fig. 24, die damit einen Kontrast zu Fig. 23 liefert, wie er kaum schroffer gedacht werden kann.

10. und 11. *Azotobacter chroococcum*, Stämme Krakau, weiß und schwarz. Diese beiden Stämme wurden nur vergleichsweise mit untersucht. Sie zeigten im ganzen die typischen *Azotobacter*-Eigenschaften. Die Fig. 25—28 wurden zum Vergleiche mit den anderen Photogrammen beigegeben.

Der weiße Stamm (10) blieb dauernd farblos. Dagegen trat bei dem anderen (11) die Schwarzfärbung auf Mannit-Agar regelmäßig nach 10, auf Dextrin-Kreide-Agar sogar schon nach 2 Tagen ein.

12. und 13. *Bac. malabarensis* und *Bac. danicus*. Die Größenverhältnisse der Stäbchen und der Sporen sind ganz die gleichen wie bei den sporenbildenden *Azotobacter*-Stämmen. Je nach den Züchtungsbedingungen herrscht die Stäbchen- oder die Kokkenform vor (Fig. 29 und 30).

Das Wachstum auf den Fleischnährböden und auf der Kartoffel ist dagegen viel üppiger als in jenem Falle. Meist tritt die an *Mesentericus* erinnernde Faltenbildung deutlich hervor. Neben der Bildung eines gelben Farbstoffes kann es auch zur Produktion eines rehbraunen Pigmentes kommen. Nicht immer findet Auflösung der Gelatine statt.

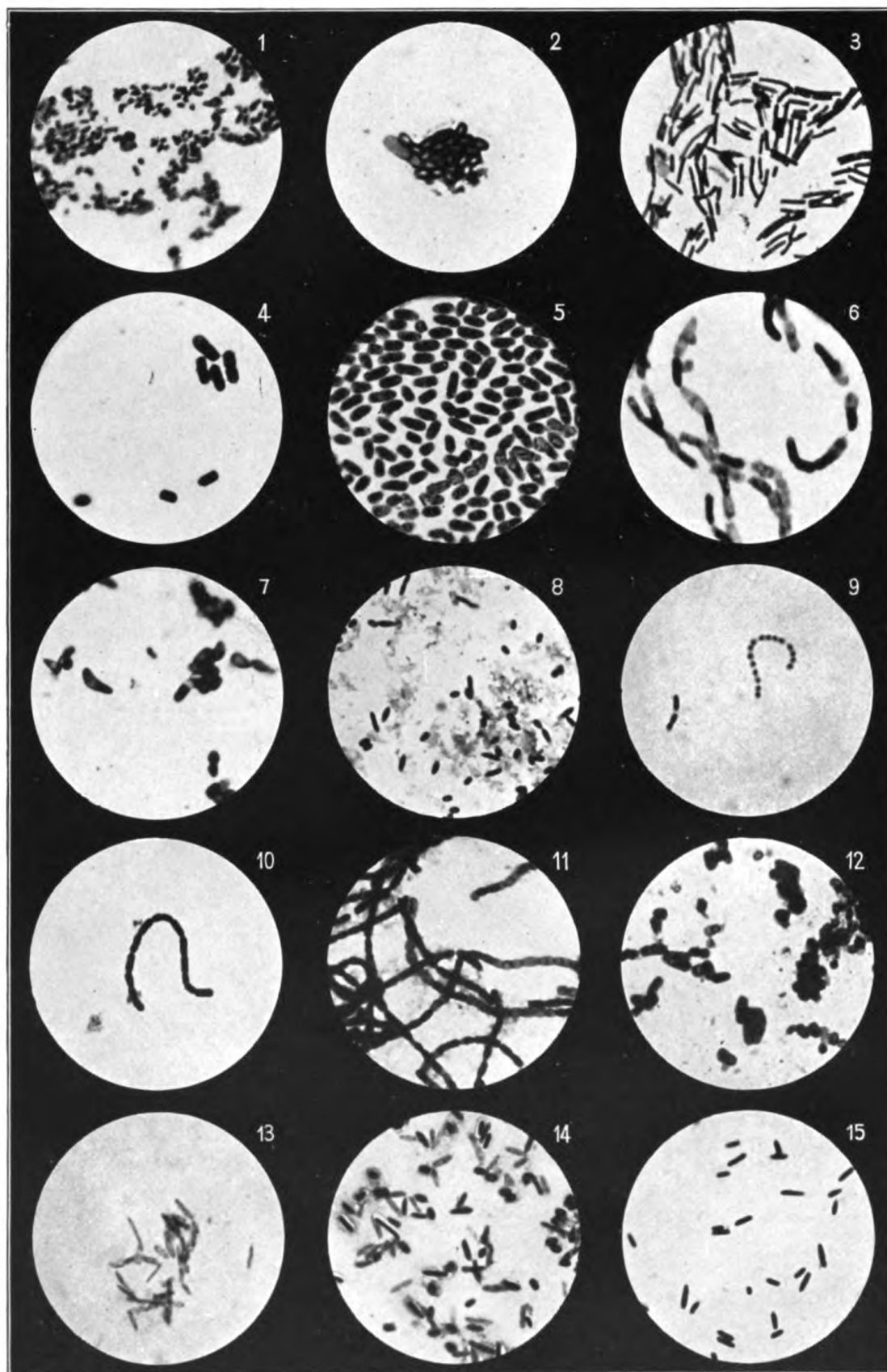
Sporen-Erhitungsversuche. Die Thermorexistenz der Sporen wurde in der Weise festgestellt, daß Material von Mannit-Agar in Mannit-Erdextrakt und von Kartoffel in Wasser verteilt und sodann im Wasserbade bis auf 98° C erhitzt wurde. Nach erfolgter Abkühlung wurde je 1 Öse aus der pasteurisierten Flüssigkeit auf Mannit-Agar übertragen und diese Gläschen bei 30° gehalten. Außerdem wurde das pasteurisierte Mannit-Erdextrakt bei Zimmertemperatur aufbewahrt und mikroskopisch geprüft.

Entwicklung auf dem Mannit-Agar wurde beobachtet bei den Kulturen 3, 4, 5 und 6 sowie bei No. 12 und 13. In diesen Fällen haben demnach sicher hitzebeständige Sporen vorgelegen. Außerdem schien sich auch die Kultur No. 7 in dem pasteurisierten Mannit-Erdextrakt schwach zu entwickeln, doch konnte ein deutlich positiver Befund nicht erlangt werden.

Für die Sporen der Kultur No. 4 wurde außerdem die Tötungszeit bei 98° C und zwar mit folgendem Ergebnis ermittelt (+ bedeutet nachfolgende Entwicklung):

Dauer der Erhitzung in Minuten . . .	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4	4,5	5	5,5
In Mannit-Erdextrakt + Erde	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
In Wasser	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—

Wie sich dies bereits bei unseren früheren Untersuchungen (1908) herausgestellt hatte, stehen *Azotobacter chroococcum* und *Beijerinckii* einander sehr nahe. Die beiden aus dem sporenbildenden Zustande regenerierten Kulturen 2 und 4 ähneln einander in so weitgehendem Maße, daß man sie wohl für identisch ansehen kann. *Azotobacter*



Verlag von Gustav Fischer in Jena.

vinelandii muß, wie ebenfalls schon in jener Arbeit dargelegt worden ist, zu *Azotobacter agile* gestellt werden. *Azotobacter vitreum* unterschied sich bisher deutlich von den anderen Stämmen durch seine konstant kugelfunde Form. Jetzt haben wir, wie gesagt, ebenfalls deutlich stäbchenförmige Gestalten erhalten, und wenn es auch sowohl bei ihm wie bei der zuvor erwähnten Kultur bisher noch nicht zur Ausbildung von normalen, hitzebeständigen Sporen gekommen ist, so liegen doch deutliche Anzeichen dafür vor, daß es früher oder später gelingen wird, auch in diesen Fällen typische, Endosporen bildende Bazillen zu erhalten.

Die interessanteste Tatsache ist aber jedenfalls die, daß es durch Einimpfung von *Radio bacter* gelingt, in kürzester Zeit die charakteristischen großen sporenfreien *Azotobacter*-Formen wieder zu erhalten. Andererseits begünstigt offenbar das jahrelange Fortzüchten der Reinkulturen den Übergang in die sporenbildende Bazillenform namentlich dann, wenn die Überimpfungen nur in längeren (mehrmonatlichen) Zwischenräumen vorgenommen wurden. Das allmähliche Austrocknen des Substrates wirkt augenscheinlich fördernd auf die Ausbildung der resistenten Dauerformen.

Bekanntlich geben auch solche Erden, die sich in der Regel als sehr reich an *Azotobacter* erweisen, nicht immer normal entwickelte Kulturen im Anhäufungsversuch. Die Annahme, daß *Azotobacter* im Boden zeitweise von anderen Arten überwuchert wird, liegt ja gewiß am nächsten. Außerdem wird aber nun auch die Möglichkeit im Auge zu behalten sein, daß durch bisher unbekannte Umstände die Ausbildung der sporenbildenden Bazillenform begünstigt wurde. In der Tat sind ja gerade solche Formen in mißlungenen *Azotobacter*-Anhäufungsversuchen recht häufig anzutreffen.

Sicherlich würden weitere Forschungen in dieser Richtung noch manchen für den Systematiker wie für den Physiologen gleich wichtigen Einblick erschließen.

Tafel-Erklärung.

Sämtliche Vergrößerungen 800-fach.

Tafel I.

Fig. 1. *Az. chroococcum* Ohio, Kultur No. 1. Zwergform von Mannit-Agar, 7 Monate alt.

Fig. 2. *Az. chroococcum* Ohio, regeneriert, Kultur No. 2. Normale Zellen mit Sporen von Mannit-Agar. Präparat von 1912.

Fig. 3. Desgl. Schlanke Stäbchen von Fleischagar. 3 Tage bei 30° C.

Fig. 4. Desgl. Normale Zellen aus Mannit-Erdextrakt und Erde. 2 Tage bei 30° C.

Fig. 5. *Az. Beijerinckii*, typische Form, Kultur No. 3. Kurzstäbchenform von Mannit-Agar. 6 Tage bei 30° C.

Fig. 6. Desgl. Schlanke und dicke Formen von Fleischgelatine. 15 Tage bei 20° C.

Fig. 7. Desgl. Zugespitzte Formen von Kartoffel. 15 Tage bei 30° C.

Fig. 8. Desgl. Stäbchen und Sporen von Mannitlösung + Erde. 5 Tage bei 30° C.

Fig. 9. *Az. Beijerinckii*, sporenbildende Kultur No. 4. Streptokokkenartige Wuchsform aus pasteurisierter Mannitlösung. 2 Tage bei 30° C.

Fig. 10. Desgl. Kette von Kurzstäbchen aus pasteurisierter Mannitlösung. 1 Tag bei 30° C.

Fig. 11. Desgl. Pasteurisierte Mannitlösung. 3 Tage bei 30° C.

Fig. 12. Dicke, sporenbildende Zellen von Kartoffel. 9 Tage bei 30° C.

Fig. 13. *Az. Beijerinckii*, sporenbildende Kultur No. 5. Dünne und dicke Form von Mannitagar. Präparat von 1912.

Fig. 14. Desgl. Stäbchen und Clostridien von Kartoffel. 5 Tage bei 30° C.

Fig. 15. *Az. Beijerinckii*, sporenbildende Kultur No. 6. Stäbchen von Mannit-Agar. 2 Tage bei 30° C.

Tafel II.

- Fig. 16. Desgl. Stäbchen und Sporen von Kartoffel. 5 Tage bei 30° C.
 Fig. 17. Desgl. Stäbchen aus Mannitlösung + Erde. 2 Tage bei 30° C.
 Fig. 18. Desgl. Große Zellen in Mischkultur mit *Radio bacter* aus Mannitlösung + Erde. 17 Tage bei 30° C.
 Fig. 19. Desgl. Dicke Stäbchen von der Mannit-Agar-Platte. 26 Tage bei 20° C.
 Fig. 20. *Az. vinelandii*, Kultur No. 7. Von Kartoffel. 5 Tage bei 30° C.
 Fig. 21. Desgl. Aus Mannitlösung + Erde. 5 Tage bei 30° C.
 Fig. 22. *Az. vitreum*, Kultur No. 8. Runde Zellen von Mannit-Agar. 4 Monate bei 20° C.
 Fig. 23. Desgl. Dicke Stäbchen und Sporen (durch Pfeile markiert) von Kartoffel. 9 Tage bei 30° C.
 Fig. 24. Desgl. *Sarcina*-ähnliche Wuchsform aus Mannitlösung + Erde. 5 Tage bei 30° C.
 Fig. 25. *Az. chroococcum*, Krakau, weiße Kultur No. 10. Von Mannit-Agar-Platte. 5 Tage bei 30° C.
 Fig. 26. Desgl. Von Fleischagar. 5 Tage bei 30° C.
 Fig. 27. *Az. chroococcum*, Krakau, schwarze Kultur No. 11. Aus Mannitlösung + Erde. 5 Tage bei 30° C.
 Fig. 28. Desgl. Von Fleischagar. 9 Tage bei 30° C.
 Fig. 29. *Bac. danicus*, Stamm A (Suzuki). Von Mannit-Agar. 7 Tage bei 30° C.
 Fig. 30. Desgl. Von Kartoffel. 5 Tage bei 30° C.

Nachdruck verboten.

Studies on Soil Protozoa.

II. Some of the Activities of Protozoa.

[From the Laboratorium für Bakteriologie am Landwirtschaftlichen Institut der Universität Leipzig.]

By Andrew Cunningham, B. Sc. (Edin.).

I. Introduction.

The work discussed in this paper is a continuation of that described in a previous communication¹⁾ to this journal. Unfortunately it has been found impossible to bring all the problems taken up to a satisfactory conclusion in the time available. And as, owing to unforeseen circumstances it is necessary, for the present at least, to leave this subject, the results so far as they have been arrived at are brought together in this publication and the lines on which it had been intended to work are indicated. It is hoped, however, that an opportunity of continuing this work on the soil Protozoa may present itself at some future date.

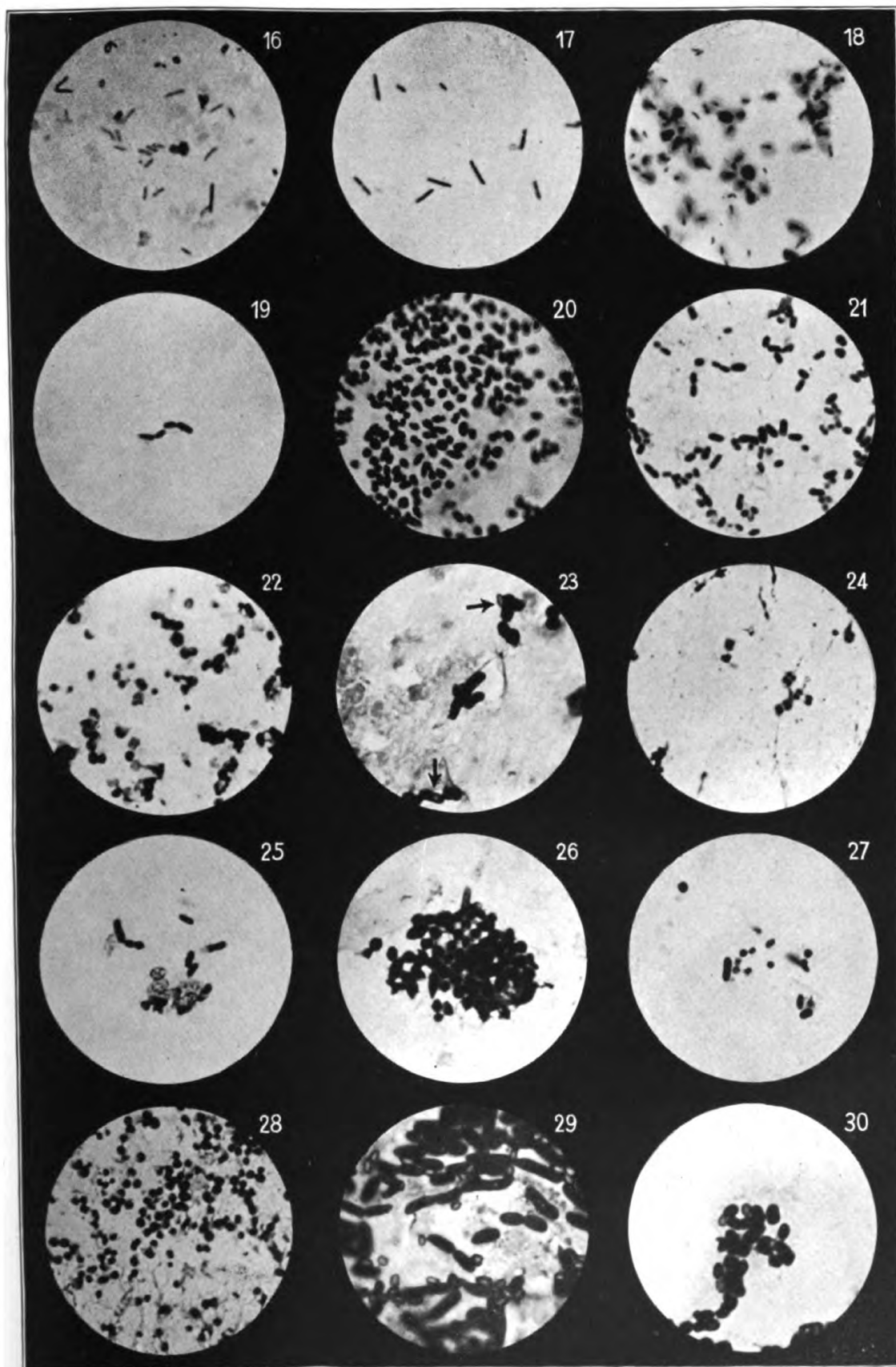
The points which will be dealt with here are:

The dilution method and its application to the enumeration of Protozoa in soils.

The effect of Protozoa on the numbers of bacteria in ammonifying solutions and on Ammonification in solution tests.

The effect of inoculations of Protozoa on the bacterial content of partially-sterilised soils.

¹⁾ Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 39. p. 596—610.



Verlag von Gustav Fischer in Jena.

II. The Dilution Method.

The dilution method has already been applied to the enumeration of protozoa in soils by Rahn¹⁾. He used as media peptone and sugar solutions incubated for 7—14 days. The dilutions were made in the usual way and at the end of the incubation period the cultures were submitted to microscopic examination. As a result of his work he found that drying the soil caused a reduction in the numbers of protozoa and that this reduction was first noticeable in the case of the amoebae. Killer²⁾ also used the dilution method, with a number of the solutions employed for cultivation of soil bacteria as media.

The method employed in these experiments is in principle the same as that generally applied to Bacteriological work. Four parallels in each dilution are used. The medium is soil extract (prepared as described in Löhnis' Praktikum p. 118 but undiluted) + .1 per cent K_2HPO_4 in 1 cc. quantities in small test tubes. To each tube 1 cc. of the dilution-water is added, so that the medium, so far as the protozoa are concerned, is ordinary soil extract + .05 per cent K_2HPO_4 . But, if the dilutions are put up simply as above described, it has been found that the multiplication of the protozoa after excystation is rather slow and the microscopic work as a consequence is very tedious. It has been observed that inoculation of the soil extract with a protozoa-free culture of bacteria, prepared from a bloodmeal culture as described in the previous paper (p. 604) hastens the multiplication of the protozoa. The microscopic work is thus considerably facilitated. The procedure is to inoculate the soil extract with the protozoa-free culture and incubate for two days before inoculation from the dilutions.

Subsequent work on the effects of moisture etc. on the protozoal content of soils has shown that the dilutions 100, 1,000, 10,000, 100,000 etc. are not close enough to bring out differences due to the treatment of the soils. It has, therefore, been found necessary to employ closer dilutions. Those used are, for example: 100, 300, 500, 750, 1000, 3000, 5000 etc.

When now the method is applied to the enumeration of protozoa in soils, it is found that the results are rather irregular. Up to a certain dilution all four parallels in each case give positive results. Then in the next three or four dilutions 1—3 of the parallels in each are positive, the remainder negative. Table I shows a typical case. The figures given in the columns indicate the number of parallels showing positive results.

Table 1.

Incubation period (22° C.)	Dilutions					
	5000	7500	10,000	30,000	50,000	75,000
5 days	4	1	1	1	1	0
12 „	4	3	3	2	2	0
30 „	4	4	4	3	2	2

It will be observed that after five days incubation the development is regular up to and including 5000 with single positive results in each of the next four dilutions. On incubation for a further period of 25 days the regular development stage is pushed forward to the 10,000 dilution. But beyond

¹⁾ Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 36. p. 419.

²⁾ Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 37. p. 521.

this irregularities still remain. From the point of view of regularity, therefore, the 30 days is no better than the 5 days period, although it gives a slightly higher result. But 30 days is as long an incubation period as could be conveniently adopted and consequently it was not considered advisable to investigate the effects of a longer period. And, as 5 days incubation give as satisfactory results as 30 days, the former has been adopted in subsequent work. The question of the higher results obtained after 30 days need not be considered in view of the much greater convenience of the shorter period. In any case the dilution method, here as with bacteriological work, gives only relative, not absolute results. The whole of the protozoa in soils do not develop in soil extract.

With a view to obtaining more regularity in the results some slight modifications of the method were tried. In the dilution method, as used in bacteriological work, the addition of small quantities of sterile soil to the medium is found to have a beneficial effect on the growth of the soil bacteria. It was thought that the same might apply to the protozoa but this has not proved to be the case. Indeed, the use of sterile soil results in a much slower excystation of the protozoa and no improvement as regards regularity. The retardation of excystation is probably due to the extraordinarily beneficial effect which the soil has on the growth of the protozoa-free culture before the inoculation with protozoa. It has frequently been observed that the development of protozoa in a medium containing exceptionally large numbers of bacteria is considerably hindered. In a further experiment the inoculation with protozoa-free culture was omitted, only sterile soil being added. The results obtained were very low and quite as irregular as in the previous case.

The effect of the reaction of the medium was next tested. But soil extract + chalk as well as soil extract + .01 per cent hydrochloric acid and soil extract + .01 per cent caustic potash effected no improvement with regard to the regularity of the results. The ordinary soil extract + .1 per cent K_2HPO_4 + protozoa-free culture was therefore used in all subsequent work and the last dilution in which all four parallels gave a positive result after 5 days incubation at 22° C. was adopted (quite arbitrarily, of course) as the protozoal content of the material examined. In all cases the results are given as numbers per gram of soil.

With regard to the cause of the irregularity in the development in the dilutions, it is most probably to be explained on the supposition that the protozoa adhere very readily to the soil particles. It is exceedingly likely that the amoebae in particular may be carried over from dilution to dilution in this way.

In the last paper, 58° C. was suggested as a temperature which would kill off all active soil protozoa capable of development on soil extract and so allow of a distinction being drawn between active and encysted forms. This temperature has been adopted in combination with the dilution method already described. Two sets of dilutions are generally made, the first with the untreated soil, the second with the soil after heating to 58° C. The heating is generally carried out in the 100 dilution.

As a result of further work it appears probable that a temperature of 58° C. kills a number of the encysted protozoa in addition to the active forms. Thus, for example, it has been found that pure cultures of certain flagellate and ciliate cysts do not excyst after being heated to 58° C. and subsequently

brought into fresh media. The results of some experiments on the effect of drying on the protozoa may also be cited in this connection. Two samples of soil were allowed to dry at 22° C., A for 9 days, B for 16 days. Protozoa counts were then made as above described. Table 2 shows the results.

Table 2.

Sample A.	Dilutions				
	750	1000	3000	5000	7500
Total Nos. . .	4	4	2	2	2
After heating to 58°	4	3	1	0	0

Sample B.	Dilutions				
	100	300	500	750	1000
Total Nos. . .	4	4	4	4	3
After heating to 58°	4	4	3	2	2

In these cases as a result of drying one would naturally expect at least a certain number of the protozoa, to encyst and the total numbers to be equal to those obtained after heating to 58° C. provided the latter treatment had no injurious action on the cysts. But in both cases the heating appears to have destroyed a number of the encysted organisms. In the first case the distinction is small but in the second it is considerable.

In order to obtain further evidence on this point the effect of treatment with caustic potash on cysts and active forms was examined. As a preliminary experiment soil extract cultures of protozoa showing numerous active and encysted forms were treated for varying lengths of time with equal quantities of a .5 per cent caustic potash solution, so that the concentration of the alkali in the cultures was .25 per cent. At the end of the period of treatment a drop of phenolphthalein solution was added to each culture and the potash neutralised with dilute lactic acid. The cultures were allowed to settle for half an hour and then microscoped. After 5 days incubation at 22° C. they were microscoped once more. The results are given in table 3. + indicates the presence of active organisms.

Table 3.

Interval since Neutralisation	Controls (with addition of phenol phthalein)		Potash allowed to act for					
			1 minute		1 hour		4 hours	
	A.	B.	A.	B.	A.	B.	A.	B.
½ hour	+	+	—	—	—	—	—	—
5 days	+	+	+	—	+	+	+	+

The treatment with potash killed all active protozoa but left the encysted uninjured and the latter were able to excyst within 5 days.

The treatment with .25 per cent potash for 1 hour was applied in the dilution method. Dilutions were made from a sample of soil, in the one case after the soil had been heated to 58° C. in the 100 dilution, in the other after

it had been treated with .25 per cent potash for 1 hour, also in the 100 dilution Table 4 shows the results.

Table 4.

Soil	Dilutions				
	500	750	1000	3000	5000
1. heated to 58° C.	4	1	2	1	0
2. treated with .25 % KOH for 1 hour	4	4	3	2	3

Here it will be observed that the heat has had a more drastic action on the cysts than has the potash. It appeared possible that this distinction might be due to the adsorption of some of the potash by the soil. It was found, however, by titration of the remaining alkali with acid that, under the conditions of the above described experiments only 10—15 per cent of the potash is so put out of action, — a quantity quite insufficient to account for the difference in the results obtained.

From these experiments, therefore, it seems highly probable that heating to 58° C. kills a considerable number of the encysted protozoa. But it has been shown that heating to 58° C. is absolutely necessary if one wishes to make sure of killing off all active forms (particularly ciliates). From what has been said it is evident that it is impossible to fix upon a temperature which will destroy all active protozoa in soils and leave the cysts perfectly uninjured. This was only to be expected. In the case of the bacteria the power of resistance to heat of the active forms varies enormously and sometimes even surpasses that of the spores of less resistant species. The same remark would appear to apply to the protozoa. Further, it must be remembered that during a period of excystation or encystation of a particular species it is quite impossible to draw a hard and fast distinction between cyst and active form. And it is obvious that the various transition forms encountered in such cultures must have very varied powers of resistance to heat. Any temperature selected for the purpose of distinguishing active protozoa from cysts must therefore be of a arbitrary nature. And as it is better to select a temperature which will kill all active forms even if it does injure some of the cysts, rather than one which will leave the cysts unharmed and also probably some of the active forms alive, the continued use of 58° C. seems to be justified. This view is supported by the results of experiments which will presently be discussed. It has been found that the numbers obtained by the dilution method after heating to 58° C. (referred to, later, as "Cysts") show variations corresponding with variations in the treatment of the material. The method, therefore, yields useful results which, after all, is the best justification it can have.

The results of the experiments on the effect of heat quoted above probably rather exaggerate its injurious action. In this connection three points must be kept in mind:

1. It must be remembered that in those cases in which the cysts failed to excyst after heating to 58° C. pure cultures were dealt with. In the results of experiments on the effect of heat on cysts, described in the previous paper, the thermal death point of the most resistant cysts found in soil is given as 72° C. This does not, however, exclude the possibility of the presence of forms with less resistant cysts.

2. In the experiments on the effect of drying, the desiccation itself may have had an injurious action on the cysts and as a consequence may have rendered them a more easy prey to the injurious influence of the heat.

3. In the potash experiment, protozoa which had been cultivated on an artificial medium (soil extract) and thus probably rendered less resistant, are dealt with.

III. The Occurrence and Activity of Protozoa in Soils as indicated by the Dilution Method.

The relative occurrence of the flagellates and amoebae in soil is indicated in table 5:

Table 5.

Dilutions	3000	5000	7500	10,000
Parallels	A. B. C. D.	A. B. C. D.	A. B. C. D.	A. B. C. D.
F = Flagellates	F. F. FA. F.	FA. FA. F. F.	FA. F. F. F.	F. FA. F. F.
A = Amoebae				

Dilutions	30,000	50,000	75,000	100,000
Parallels	A. B. C. D.	A. B. C. D.	A. B. C. D.	A. B. C. D.
F = Flagellates	F. F. — F.	F. — — —	— — — F.	F. — — —
A = Amoebae				

The flagellates are seen to occupy first place. The amoebae are rather fewer in number but this may be due to the fact that they are rather sensitive to the presence of members of the other groups and are probably to some extent suppressed by them in the cultures. The ciliates are always present in much smaller numbers. They are rarely seen in dilutions exceeding 100. But the appearance of the various groups in particular dilutions cannot be considered as giving any very sure indication of the relative occurrence of protozoa in soils.

To the question as to whether the protozoa lead an active life in soil it has been shown that the action of heat combined with the dilution method does not give a definite answer. That question, however, is answered in the affirmative by the results of experiments which will now be discussed.

a) The Effect of Temperature.

1. On the number of protozoa in soils. For these experiments some garden soil was passed through a 2 mm. sieve and placed in an ordinary porous flowerpot. The moisture content was determined and adjusted to 70 per cent of the water holding capacity of the soil. It was kept at this saturation by watering with boiled water every day during the course of the experiment. The total numbers of protozoa and cysts growing on soil extract were determined by the method described above, immediately after the first adjustment to 70 per cent W. H. C. The pot was kept in succession for 9 days at 5—7° C., for 7 days at 22° C. and for 7 days at 30° C., determinations of total numbers of protozoa and cysts being made before each change of temperature. Table 6 shows the results.

Table 6.

Total Numbers	Dilutions				
	7500	10,000	30,000	50,000	75,000
In original soil	4	4	2		
After 9 days at 5—7° C.	4	4	3	1	1
After further 7 days at 22° C.	4	4	4	3	2
After further 7 days at 30° C.	4	4	3	2	0

Cysts	Dilutions				
	500	750	1000	3000	5000
In original soil	4	4	3	2	
After 9 days at 5—7° C.	4	4	4	1	2
After further 7 days at 22° C.	4	4	4	2	2
After further 7 days at 30° C.	4	4	3	4	3

It will be noted that after 9 days at 5—7° C. practically no change from the original numbers is observed. This is as was to be expected for the temperature was about the same as that to which the soil had been exposed in the garden and the only change in the conditions was that the soil in the flower-pot had received about 3 per cent more water than was present in the plot from which it was taken. But after a period of 7 days at 22° C. quite a considerable increase in the total number has taken place while the cysts have remained practically stationary. Exposure to a temperature of 30° C. for 7 days has caused a fall in the total numbers but a distinct rise in the number of cysts. The fall in the total numbers is readily explained when one bears in mind that certain of the soil protozoa in active form are killed by a temperature of 25° C. Doflein¹⁾ refers to the work of Grosse-Allermann who showed that *Amoeba terricola* (Greef) is killed after a few hours at 25° C. But apart from this 30° C. is evidently too high a temperature to allow of the activity of quite a number of the protozoa in soils as is shown by the increase in the number of cysts. As the result of these experiments, therefore, a temperature in the neighbourhood of 22° C. seems to be the most suitable for the activity of the majority of the soil protozoa.

But although 22° C. is the optimum for the majority of the protozoa in soils, this does not exclude the possibility of the presence of other organisms adapted to higher temperatures. In order to try to throw some light on this point a further experiment was undertaken. The protozoal content of a sample of soil which had been saturated with water and kept for 8 days at 22° C. was determined. The soil was then placed in the 30° C. incubator for 38 days during which time it was kept saturated with water. Determinations of the numbers of protozoa in the soil after 8 and 38 days respectively were made. For all three determinations quantities of the soil corresponding to the same dry weight were employed so that the figures in table 7 are comparable.

¹⁾ Lehrb. d. Protozoenkunde. p. 319.

Table 7.

Total Numbers	Dilutions				
	10,000	30,000	50,000	75,000	100,000
After 8 days at 22° C.	4	4	3	2	1
After 8 days at 30° C.	4	1	2	2	1
After 38 days at 30° C.	4	4	4	2	

Cysts	Dilutions				
	300	500	750	1000	3000
After 8 days at 22° C.				3	2
After 8 days at 30° C.		4	3	1	2
After 38 days at 30° C.	1	2	2	2	0

A fall in the total numbers of protozoa is observed after 8 days at 30° C. as was to be expected from the results given above. But later the organisms which are adapted to the higher temperature show a marked increase in numbers. It is evident, therefore, that soil contains protozoa adapted to a temperature of about 30° C. and that these become active when the conditions are favourable for their growth.

2. On the kind of protozoa in soils. Observations on cultures (chiefly bloodmeal solutions + K_2HPO_4) of soil protozoa, kept at various temperatures have yielded some interesting results. In such cases at temperatures below 8° C. flagellates only have been observed. These appear to multiply much more rapidly at the low temperature than they do at 22° C., for example, and they continue for a much longer period in the active form. In cultures kept at 22° C. flagellates, ciliates and amoebae may all be present. At 30° C. on the other hand the fauna of culture solutions consists practically entirely of ciliates. A few flagellates are sometimes observed at first. At 38° C. few protozoa develop. Only amoebae have been observed. These points are of importance from the point of view of securing pure cultures of the respective groups.

As to the effect of temperature on the kind of organisms leading an active life in soil, little definite information has been obtained. Ciliates (in addition to flagellates) have been observed directly under the microscope in droplets taken from the surface of a saturated soil kept at 30° C. The forms seen belonged to the genus *Balantiothrus*. Such organisms may, therefore, be of importance in sewage and waterlogged soils during hot summer weather in temperate climates and also in the ricefields of tropical countries.

b) Effect of Moisture.

1. On the number of protozoa in soils. In the following experiments the temperature was kept constant at 22° C.

Experiment I. The water content of a sample of garden soil was adjusted to 70 per cent of its water holding capacity and a determination of the number of protozoa present was made by means of the dilution method. The sample was divided into three portions. In the first case 10 grams of the soil was placed in a Petri dish. The lid was kept raised so as to allow of evaporation of moisture but prevent contamination from the air.

The second portion consisted of 30 grams of soil, also in a Petri dish. This sample was saturated with water and the lid allowed to remain in position to prevent evaporation as much as possible. The third portion consisted of the remainder of the sample in a flower pot covered with cotton wool to minimise evaporation but allow free access of air. The first portion was allowed to dry for nine days, the second was kept saturated for 8 days while the third was kept at 70 per cent W. H. C. for 7 days. At the end of these periods a determination of protozoa was made for each portion. In the case of the dry and saturated samples quantities corresponding to 1 gram of the 70 per cent sample were taken for the dilutions. The results are shown in table 8.

Table 8.

Total Numbers in	Dilutions						
	1000	3000	5000	7500	10,000	30,000	50,000
Original sample. .	4	4	4	4	4	2	
Dried sample . .	4	2	2	2	0	1	
70 % W. H. C. sample.	4	4	4	4	4	4	3
Saturated sample .	4	4	4	4	4	4	3

Cysts in	Dilutions						
	300	500	750	1000	3000	5000	7500
Original sample. .	4	4	4	3	2		
Dried sample . .			4	3	1	0	0
70 % W. H. C. sample.	4	4	4	4	2	2	1
Saturated sample .				3	2	0	1

The effect of drying is seen in the reduction of the total numbers. The 70 per cent and saturated samples have given the same increase. The cysts show practically no change as a result of the variations in the treatment.

Experiment II. In this case the original sample was divided into two portions. One was allowed to dry for 9 days: the other was kept saturated for 7 days. Bacterial counts were also made on the samples, agar at 22° C. being used as medium. Otherwise the procedure was the same as in Expt. I. Table 9 shows the results.

Table 9.

Total Numbers in	Dilutions						Bacteria (millions per gram)
	750	1000	3000	5000	7500	10,000	
Original sample				4	2	2	13.95
Dried sample	4	3	2	2			6.90
Saturated sample			4	4	3	3	5.20

Cysts in	Dilutions						
	100	300	500	750	1000	3000	
Original sample			4	1	2	1	
Dried sample		3	2	3	1	0	
Saturated sample		1	1	2	2	0	

Drying has again resulted in a reduction in the numbers of protozoa while the saturation of the soil with water has produced a slight increase in total numbers and a very decided decrease in the number of cysts. The bacterial content has in both cases fallen considerably and it is noteworthy that from the saturated soil more bacteria have disappeared than from that which has been exposed to drying. But the conditions in the saturated soil cannot be regarded as very unfavorable for bacterial growth, for the layer of soil and water is quite a thin one (about $\frac{1}{4}$ inch).

Experiment III. The plan in this case was similar to that adopted in Expt. I but bacterial counts on agar at 22° were added. The dried soil was kept for 16 days: the 70 per cent sample for 15 days and the saturated sample for 14 days. Table 10 contains the results.

Table 10.

Total Numbers in	Dilutions						Bacteria (millions per gram)
	750	1000	3000	5000	7500	10,000	
Original sample	4	3	2	1	1	0	8.1
Dried sample	4	3					3.1
70 % W. H. C. sample . .	4	4	4	3	1	2	6.4
Saturated sample	4	4	4	4	4	4	6.7

Cysts in	Dilutions					
	50	100	300	500	750	1000
Original sample	0	1	0	0	0	0
Dried sample	4	4	4	3	2	2
70 % W. H. C. sample . .	3	2	0	0	0	0
Saturated sample	3	1	1	0	0	0

Here the drying has caused no decrease in the total numbers of protozoa. The latter appear all to have been able to encyst before the soil became too dry for active life. This view is supported by the fact that the cysts have shown a marked increase in the dried sample. Very decided increases in total numbers are observed in the 70 per cent and saturated samples, especially the latter. The fall in the bacterial content of the 70 per cent and saturated samples is not so marked in this instance as it was in the case of the saturated sample in Expt. II. This is probably due to the fact that the protozoal activity had reached its maximum before the counts were made as is indicated by the increase in the number of cysts. The same cause has probably resulted in an obliteration of any difference, which might have been expected, in the bacterial contents of the 70 per cent and saturated samples as a result of the difference in the protozoal content of the latter.

Experiment IV. The 70 per cent sample, after use in Expt. III was employed as the starting point in this experiment. The samples to be dried and saturated respectively were taken from it and the remainder was kept for a period of 12 days at 70 per cent W. H. C. The dried sample was kept for 14 days, the saturated sample for 12 days and bacterial and protozoal counts were made for all three samples as in the last experiment. The results obtained are given in table 11.

Table 11.

Total Numbers in	Dilutions									Bacteria
	500	750	1000	3000	5000	7500	10,000	30,000	50,000	
Original sample. . .		4	4	4	3	1	2			6.4
Dried sample . . .	4	3	1	2						3.8
70 % W. H. C. sample			4	3	3	1	2	3		8.0
Saturated sample . .				4	4	4	4	4	4	7.2

Cysts in	Dilutions								
	50	100	300	500	750	1000	3000		
Original sample. . .	3	2	0	0	0	0	0		
Dried sample . . .		3	1	1	0	0	0		
70 % W. H. C. sample	2	3	1	0					
Saturated sample . .	2	3	1	0					

Drying has, in this instance, lowered the numbers of protozoa present, while the cysts again remain considerably behind the total numbers. The 70 per cent sample is, at the end of the experiment, in practically the same condition as it was at the beginning. It is obvious, therefore, that the protozoa in the sample had reached the maximum of their activity during the course of the preceeding experiment. Thus, these results confirm those of experiment III. The saturated sample in experiment IV has again shown a great increase in the numbers of protozoa.

The increase in the bacterial content of the saturated sample as compared with the bacterial content of the 70 per cent sample at the beginning of the experiment is again probably due to the protozoal activity having passed its maximum. The increase in the bacterial numbers in the 70 per cent sample during the course of the experiment was only to be expected from what has already been deduced.

2. On the kind of protozoa in soils. In the cultures made from the dilutions, considerable variations are to be observed in the kind of organisms obtained from saturated, 70 per cent W. H. C. and dry soils. In cultures from saturated soils practically only flagellates are found. The 70 per cent and dried samples on the other hand yield amoebae in addition to flagellates. Ciliates are seldom seen in any of the cultures. It seems highly probable, therefore, that the flagellates may require a rather moist medium for the unfolding of their activities. The amoebae appear to prefer a somewhat drier soil. But it is possible that they may also lead an active life in saturated soils but may be suppressed in the cultures by the flagellates which are present in large numbers in such soils.

To summarise the results of these experiments on the effects of temperature and moisture on the soil protozoa: It has been shown that some, at least, of the protozoa in soils lead an active life and are capable of multiplying to quite a considerable extent when the conditions become favourable. It is also very probable that those protozoa which do lead an active life in soils (as indicated by the dilution method) are capable

of limiting the numbers of bacteria present in the latter. But this point still requires some elucidation.

IV. The Influence of Protozoa on the numbers of Bacteria developing in Ammonifying Solutions.

In order to obtain some information on the capacity of soil protozoa for destroying bacteria in solutions, it was thought necessary to have a method of suppressing the former. In the literature one finds that P. T. Müller¹⁾ employed Saponin for this purpose, in connection with his investigation on the protozoa of swimbaths. The concentration used was .5 per cent and it is stated that this had no injurious action on the bacteria.

The use of Saponin was, therefore, applied to ammonifying solutions inoculated with soil. 1 per cent bloodmeal in water was heated to one and a half atmospheres in the autoclave and filtered. .05 per cent K_2HPO_4 was added and 100 cc. of the solution sterilised. After cooling this nutrient solution was inoculated with 5 grams of garden soil and incubated for 18 hours at 22° C. The bacterial content of the solution was determined (agar, incubated at 22° C. has been used as medium for bacterial counts all through this section and the results are stated in the tables as millions per cc.). The solution was divided into two equal parts in small sterile flasks and one portion received .5 per cent saponin. Plates were poured from both portions at the intervals indicated in table 12.

Table 12.
Bacterial Content of solution before division = 2.6.

Time since division of solution	Solution with saponin		Solution without saponin	
	Bacteria (cc.)	Protozoa (cc.)	Bacteria (cc.)	Protozoa (cc.)
1 hour	4.55	—	6.45	—
3 hours	9.05	—	12.80	—
6 "	12.90	—	31.00	—
24 "	75.00	—	56.00	400 F.
4 days	100.00	400 F	56.00	{ 15.000 F
10 "	68.00	{ active F and C	26.00	{ 1000 C
		under 200		200 F
20 "	220.00	{ 1200 C	23.50	{ 1200 C
		400 A		Under 200
30 "	260.00	—	14.90	—

F = flagellates. C = ciliates. A = amoebae.

The active protozoa present were counted by the microscopic method. The immediate effect of the saponin is seen in the depression in the numbers of bacteria in the solution. This, however, does not last long. After 24 hours the protozoa developing in the solution without saponin begin to exercise a decided depressing effect on the number of bacteria and this has continued throughout the experiment. But the contrast between the bacterial contents of the two portions is doubtless somewhat minimised because the saponin has failed to entirely suppress the protozoa.

After 10 days a clearing in the saponin solution set in which, taken in conjunction with the great increase in the bacterial content, appears to point

¹⁾ Arch. f. Hyg. Bd. 75. 1912. p. 321.

to the decomposition of the saponin. In order to test this two equal quantities of filtered 1 per cent bloodmeal solution + K_2HPO_4 , one of which contained .5 per cent saponin were each inoculated with 1 cc. of a protozoa-free culture of bacteria. Bacterial counts were made at the intervals shown in table 13.

Table 13.

Time since inoculation of solutions	Bacterial content of solution	
	With Saponin	Without Saponin
1 day	185	185
4 days	1250	1700
10 "	2300	1050
20 "	1600	650

From the results here obtained it is very probable that the bacteria attack the saponin and that the resulting increase in bacterial numbers will exaggerate the destructive effect of the protozoa. A second disadvantage in the use of saponin is that at a concentration of .5 per cent it does not entirely suppress the protozoa. Higher concentrations have been tried but up to 3 per cent one can never be certain that the whole of the protozoa will be excluded. It appears, therefore, that saponin is of little value for this purpose and its use has been abandoned. In the work described by P. T. Müller the action of the saponin was quite satisfactory. But it must be noted that water was employed as the medium, not a nutrient solution.

Recourse was next had to the simple method of inoculation of the solutions with bacteria alone and with bacteria + protozoa. 50 cc. quantities of 1 per cent bloodmeal solution (filtered) + .05 per cent K_2PHO_4 were employed. One flask was inoculated with bacteria + protozoa from a culture of protozoa from soil, the other received as nearly as possible an equal inoculation from the same culture of bacteria alone. The method of inoculation was the single drop method already referred to. Table 14 shows the numbers of bacteria and protozoa developing in the solution.

Table 14.

Time since inoculation of solution (days)	A.			B.		
	Bacteria alone	Bacteria + Protozoa		Bacteria alone	Bacteria + Protozoa	
		Bacteria	Protozoa		Bacteria	Protozoa
1	10	8	—	Fewer than .01	.03	—
6	736	505	65,000 F.	860	801	—
10	625	350	25,000 F.	2100	1400	C. under 200
20	700	270	15,000 F.	1120	49	1600 C.
30	370	53	25,000 F.	635	21	200 C.

It will be observed that in both experiments the solutions to be compared started with practically equal inoculations of bacteria and that the subsequent depression in the bacterial numbers is marked and runs more or less parallel with the numbers of active protozoa present. In experiment B after 20 days in addition to the 1600 Ciliates given at least 50,000 cysts were

counted. This accounts for the very rapid fall in the number of bacteria between the tenth and twentieth day. The results after 30 days indicate very clearly the destructive power of the protozoa. In A flagellates only were present: in B ciliates only and as was to be expected the results show that the latter are the more active in the killing off of the bacteria.

This method of inoculation, although it has given quite good results is not entirely satisfactory. The difficulty lies in the uncertainty as to whether the protozoa will develop after inoculation. This is probably due to the fact that the inoculum is very small compared with the bulk of the medium. The protozoa are thus forced to encyst until the bacteria develop and during this process the bacteria very frequently appear to take the upper hand.

Another method of inoculation was tried. The medium (.4 per cent bloodmeal, unfiltered, + .05 per cent K_2HPO_4 in 100 cc. quantities in Erlenmeyer flasks) was inoculated from a protozoa-free bloodmeal culture, each flask receiving a loopful. After 2 days at 22° C. some of the flasks received in addition a loopful of a bloodmeal culture containing protozoa from soil, so that from the beginning they contained more bacteria than the protozoa-free cultures. The development of the protozoa was now much more regular. Bacterial counts were made after 10 and 20 days and the numbers of active protozoa were determined roughly by the microscopic method. The results are shown in table 15.

Table 15.

No. of Expt.	After 10 days			After 20 days		
	Bacteria alone	Bacteria + Protozoa		Bacteria alone	Bacteria + Protozoa	
1	480	260	30,000 F.	167	156	10,000 F.
2	790	420	5,000 F.	260	358	0
3	} 530	440	5,000 F.	} 510	235	All encysted
4		600	10,000 F.		320	All encysted
5	} 870	480	25,000 F.	} 420	90	60,000 F.
6		780	20,000 A.		150	All encysted

Quite a marked reduction in the bacterial numbers is obtained as a result of the presence of the protozoa in all six experiments. The reduction is, however, somewhat variable and even varies during the course of the individual experiments. In 2, for example, although the protozoa have caused a great reduction in the numbers of bacteria after 10 days, after 20 days the number of bacteria in the protozoa culture is actually higher than in the protozoa free culture. The protozoa present in this case were large flagellates. But after 20 days no traces of protozoa, active or encysted, could be found. The protozoa had probably died off without encysting and then been attacked by the bacteria. This view receives support from the frequent observation in ammonifying solutions of protozoa, showing absolutely no signs of life but yet without any traces of a cyst membrane surrounding them. It is quite probable, therefore, that some species of protozoa die off without being able to encyst when the concentration of ammonia or other products of the activity of bacteria reaches a particular level. Their bodies would then be a ready prey to the attacks of bacteria and the latter might increase in numbers as a consequence.

The reductions in the numbers of bacteria as obtained in these experiments are on the average smaller than those given in table 14. But it must be remembered that the bacterial content of the protozoa cultures at the beginning was in all cases larger, probably often much larger, than that of the protozoa-free culture. The only satisfactory method for securing comparable results, therefore, is the inoculation of equal numbers of bacteria from a protozoa culture in the one instance and from a protozoa-free culture (prepared from the protozoa culture) in the other, on to fresh media and the determination of bacterial numbers in both solutions at intervals.

The results given in this section prove conclusively that the soil protozoa, in solution at all events, exercise a very decided limiting effect on the numbers of bacteria. The question of the relative activity in this direction of the three main groups of protozoa — flagellates, ciliates and amoebae — remains to be investigated.

V. The Influence of Protozoa on Ammonification in Solution Tests.

As a preliminary experiment in this direction, the quantities of ammonia produced in some of the cultures used in the last section were determined. The conditions in these cultures may be briefly recapitulated. Each culture contained .4 grm. bloodmeal + .05 grm. K_2HPO_4 in 100 cc. water. After sterilisation in the autoclave to two atmospheres pressure, each was inoculated with one loopful of a protozoa-free bloodmeal culture and incubated for 2 days at 22° C. Some of the cultures then received each one loopful of a bloodmeal protozoa culture from soil. At the end of the incubation period (20 days at 22° C.) all were distilled with magnesia and the ammonia evolved determined (See table 16 which gives the results after deduction of controls).

Table 16.

Number of Experiment	Mgs. nitrogen as ammonia in culture containing	
	Bacteria alone	Bacteria + Protozoa
1	21.4	21.3
2	20.6	19.4
3	} 19.6	{ 17.5
4		{ 18.3
5	} 19.7	{ 18.0
6		{ 19.0

From the results of the bacterial counts (table 15) one would naturally expect that ammonification would be depressed in presence of the protozoa. But the protozoa cultures have given an ammonification figure only slightly lower than that obtained in the protozoa-free cultures. The difference is comparatively insignificant. When the conditions prevailing in these experiments are kept in mind it seems probable that the higher original bacterial content of the protozoa cultures may account for the unexpectedly high ammonification number obtained from them. It is probable that the ammonification in the protozoa cultures, before development of the latter organisms may have been very rapid — so rapid that the subsequent fall

in bacterial numbers and consequent ammonifying power has been only just capable of neutralising it.

The only satisfactory method of deciding the matter seemed to be the inoculation of equal numbers of bacteria into solutions with and without protozoa. The microscopic method of counting bacteria was employed for this purpose. But in the case of these bloodmeal solutions the method was rather uncertain in its results, because of the difficulty in distinguishing the smaller species of bacteria from fine particles of bloodmeal etc. The numbers of bacteria counted in the solutions, as a result of plating on agar, showed wide differences from those given by the microscopic method. In the first set of experiments the solutions were inoculated from bloodmeal cultures of protozoa + bacteria and bacteria alone, respectively. The inoculations of bacteria were arranged by the microscopic counting method so as to be approximately equal. The counts on agar at 22° C. indicated, however, that the protozoa-free cultures had each received about 353 millions, the protozoa cultures on the other hand 440 millions of bacteria. The solutions employed were similar to those used in the last experiment. It was found advantageous to incubate all the cultures for 2 days with equal inoculations of protozoa-free culture before inoculation with bacteria or bacteria + protozoa as the case might be. The solutions were incubated for a total period of 20 days, from the first inoculation, at 22° C. The protozoa were present in observable numbers in 2 days after inoculation — i. e. four days from the first inoculation with bacteria. The ammonia was determined by distillation with magnesia and the results so obtained (after deduction of controls) are shown in table 17.

Table 17.

Number of Experiment	Mgs. nitrogen as ammonia in solution containing	
	Bacteria alone	Bacteria + Protozoa
1	19.3 21.2	15.3
2		16.4
3		14.3
4		15.2
5		15.7

In spite of the fact that the protozoa cultures started out with an inoculation of 87 millions or about $\frac{1}{4}$ more bacteria than the protozoa free cultures, they give a markedly lower figure for ammonification. The averages are, for the protozoa-free cultures 20.3 mg. N and for the protozoa cultures 15.4 mg. N. This difference lies well outside the limits of experimental error.

In the last experiment which it has been possible to carry out in this direction, the bloodmeal cultures were inoculated, as above described, with 580 millions bacteria and 480 millions bacteria + protozoa (as indicated by counts on agar at 22° C.). The conditions were otherwise the same as in the previous experiment. The quantities of ammonia produced in the cultures after 20 days at 22° C. are shown in table 18. (Controls have been deducted.)

Table 18.

Number of Experiment	Mgs. nitrogen as ammonia in solution containing	
	Bacteria alone	Bacteria + Protozoa
1	19.5 19.6	16.2
2		17.3
3		16.9
4		16.0

It is unfortunate that in this case the original inoculation of bacteria in the bacteria + protozoa cultures was so much smaller than that in the bacterial cultures. The experiment is, therefore, of little value in helping towards a solution of the question.

As to the appearance of the cultures with and without protozoa the latter have generally been somewhat brown in colour, the former greenish. Further the two sets of solutions smell quite differently. In the protozoa cultures the vile-smelling decomposition products usually associated with ammonification appear to be absent.

It had been intended to carry this section of the work much further but circumstances unfortunately do not permit. The results, so far as obtained, do not justify any very definite conclusions. The organisms dealt with are, with one exception, the flagellates and it seems probable that these may have a depressing influence on ammonification. The whole question, however, requires to be thoroughly investigated.

VI. The Inoculation of Protozoa into partially sterilised Soils.

In the second paper of Russell and Hutchinson¹⁾ on the effect of partial sterilisation of soils, it is stated that the authors have failed to observe a depression in the numbers of bacteria in partially sterilised soils as a result of inoculation with mass cultures of protozoa. This is attributed to the great multiplication of bacteria which takes place on the introduction of the considerable quantity of nutrient material contained in the culture. Greig Smith²⁾ also failed to obtain a reduction in the numbers of bacteria, after inoculation of partially sterilised soil with protozoa cultures.

Two experiments bearing on this point have been carried out here. For the first experiment 500 grams of air-dry soil was passed through a 2 mm. sieve. 2.5 cc. Formalin in 20 cc. water was rubbed up with the soil in a mortar and allowed to act in a glass bottle with close fitting stopper for 6 days. A sterile suspension of 3 grams freshly slaked lime in 50 cc. water was added to combine with the Formalin and render it harmless. The bottle was placed in the 38° C. incubator for one day. After some weeks at room temperature the soil was thoroughly broken up with a large, sterile, metal spatula and weighed out in 20 gram quantities into sterile Erlenmeyer flasks. The water content was not determined but it probably amounted to about 10 per cent.

¹⁾ Journ. of Agric. Sc. V. 2. p. 152.

²⁾ Proc. Linn. Soc. N. S. Wales. Abstracts. 1912. p. 2—3; Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 39. p. 152.

In order to try to minimise, as much as possible, the effects of the nutrient matter in the protozoa culture solution, soil extract + .05 per cent K_2HPO_4 was selected as medium. This was inoculated with soil and after the protozoa had developed a protozoa-free culture was prepared from it. Both soil extract cultures were kept for about 2 months before being used for inoculation purposes. Two of the flasks containing sterilised soil received each 1 cc. of the protozoa culture, the other two 1 cc. of protozoa-free culture. All four received 1 cc. of sterile water each, in addition, in order to bring up the water-content of the soil to about 20 per cent (roughly 70 per cent of the water holding capacity). In order to represent, more or less, the conditions obtaining in Russell and Hutchinson's experiments a second series of 4 flasks was inoculated, two with protozoa + bacteria and two with bacteria alone as in the last case. The sterile water was replaced in this instance by an equal quantity of a sterile 2 per cent filtered fleshmeal solution. Of the controls two received 2 cc. sterile water each, the remaining two each 1 cc. sterile water and 1 cc. sterile fleshmeal solution.

The bacterial content of the protozoa-free culture was 121 millions per cc.: that of the protozoa culture 12 millions per cc. (agar at 22° C. was used as medium for the counts in this section). The numbers of bacteria in the soil samples used in the experiment were determined after 20 days at 22° C. The water-contents were adjusted once more to roughly 20 per cent with sterile water and the flasks were allowed to remain for a further period of 20 days at 22° C. The bacterial contents of the soil samples were again determined (table 19).

Table 19.

Number	Inoculation	Bacterial content (millions per gram) after	
		20 days	40 days
1	{ 1 cc. protozoa free culture + 1 cc. sterile water }	155	100
2		240	240
3	{ 1 cc. protozoa culture + 1 cc. sterile water }	180	200
4		110	160
5	{ 1 cc. protozoa free culture + 1 cc. sterile fleshmeal soln. }	170	250
6		255	220
7	{ 1 cc. protozoa culture + 1 cc. sterile fleshmeal soln. }	310	200
8		340	140

The results of the bacterial counts are rather irregular. This is probably due to the fact that the soil samples used were only watered once during the experiment. The inoculation of bacteria, therefore, probably did not get thoroughly distributed in the soil. The only cultures which have shown a decided depression in bacterial numbers after 40 days (as compared with 20) are Nos. 7 and 8. Here the lowering in numbers is quite marked and considerably larger than in any other case. After the bacterial counts were made the soil samples were covered with soil extract + K_2HPO_4 and incubated for 7 days at 22° C. At the end of this period the cultures so made from Nos. 3, 4, 7 and 8 contained active protozoa. 7 and 8 showed decidedly larger numbers than did 3 and 4. The remaining 4 soil samples as well as the controls showed no protozoa. But the original "sterilised" soil and the controls contained numerous bacteria.

From the results here given it is probable that the inoculated protozoa have been active in Nos. 7 and 8. But the period of activity under the conditions of the experiment must have been a short one as after the single watering the soil would very soon become too dry for active life. This, in all probability, accounts for the comparatively small depression in bacterial numbers.

For the confirmatory experiment the soil was sterilised with Formalin in the flasks in which it was to be subsequently used. Quantities of 50 grms. of air-dry sieved soil were rubbed up in a mortar with 2 cc. of a solution containing 5 cc. Formalin + 35 cc. water. 45 grams of the soil was immediately weighed out into each of the flasks. The flasks used were small Erlenmeyer's closed by tight-fitting corks. The Formalin was allowed to act for 6 days and was then decomposed with slaked lime as described in the last experiment. Each flask received 5 cc. of a sterile suspension of 5 grams Ca(OH)_2 in 100 cc. water (water content of soil in flasks = 70 per cent W. H. C.). The flasks were placed in the 38° C. incubator for 24 hours. The soil in each was thoroughly broken up with a sterile spatula and the flasks put back in the incubator for another day. The corks were then replaced by sterile cotton-wool stoppers and the flasks weighed. After several days in the 38° C. incubator to hasten evaporation, the flasks received the inoculations shown in table 20 and the water content of the soil was brought up to 70 per cent W. H. C. The water content was readjusted once a week to this level and after 25 days bacterial counts were made for the various soil samples.

Table 20.

Number	Inoculation	Bacterial Content (millions per gram)
1	1 cc. protozoa-free culture + 1 cc. protozoa	100
2	culture + 1 cc. sterile water	52
3	1 cc. protozoa-free culture + 1 cc. protozoa	133
4	culture + 1 cc. sterile 2 % fleshmeal soln.	77
5	1 cc. protozoa-free culture + 2 cc. sterile	—
6	water	860
7	1 cc. protozoa-free culture + 1 cc. sterile	420
8	water + 1 cc. sterile fleshmeal soln.	950
9	2 cc. sterile water + 1 cc. sterile fleshmeal soln.	—
10	3 cc. sterile water	—

Soil extract cultures were prepared from the soil samples as in the last experiment. Those from nos. 1—4 showed numerous active flagellates after 7 days at 22° C. In the remainder of the cultures no protozoa were found. The controls 9 and 10 remained practically sterile. They contained fewer than 10 bacteria per gram.

The plates poured for no. 5 remained sterile. The lowest dilution used was 1 million. It is practically certain, however, that this must have been due to a slip in the manipulation and as the samples had been used for soil extract cultures before it was discovered the mistake could not be rectified. At all events the soil extract culture showed quite as good a development of bacteria as was got from samples 6, 7 and 8.

The protozoa free culture contained 184 millions, the protozoa culture 24 millions bacteria per cc. and as the soils inoculated with protozoa received

in addition 1 cc. of the protozoa free culture they contained at the beginning of the experiment about 24 millions more bacteria than the soils inoculated with protozoa-free culture alone. But during the course of the experiment the conditions have become reversed and the soils containing protozoa now show a bacterial content of, on the average, about $\frac{1}{8}$ that of the soils inoculated with protozoa-free culture. The reduction in bacterial numbers in the soils inoculated with protozoa is very marked and lies well outside the limits of experimental error. The conclusion may safely be drawn, therefore, that the limiting factor or at least one limiting factor (of Russell and Hutchinson) has been inoculated into the sterilised soils and has produced its effects on the numbers of bacteria. This limiting factor can thus be cultivated on soil extract medium. That it has not simply been introduced into the sterilised soils with the soil used for inoculation of the soil extract (i. e. without having grown on the latter) is proved by the fact that for the second experiment subcultures (made by inoculation of 1 loopful of the original cultures on to fresh sterile medium) were used. Large numbers of protozoa were observed in the solutions used for inoculation and these organisms were cultivated once more on soil extract from the soils which showed low bacterial counts. And, as it has been shown that the protozoa are capable of reducing the numbers of bacteria in solutions it appears justifiable to consider them as the limiting factor in soils.

In conclusion I wish to thank Prof. L ö h n i s for having suggested this work on the soil protozoa and for advice, ever at my disposal, during the carrying out of it.

Nachdruck verboten.

Morphologie und Physiologie von *Hyalopus heterosporus* nov. spec.

Von Richard Harder.

Mit 1 Tafel und 25 Figuren im Text.

Der Organismus, der in der vorliegenden Arbeit beschrieben ist, wurde im botanischen Institut in Kiel in einer von K a h l b a u m bezogenen Normallösung von Ammoniumchlorid gefunden. Er bildete darin grauweiße Büschel von $\frac{1}{4}$ bis $\frac{1}{2}$ cm Durchmesser, die in der Flüssigkeit an der Wand der Glasflasche angewachsen waren.

Mikroskopische Untersuchung ergab, daß es sich um einen Pilz handelte, und zwar um eine bisher noch unbekannte Art der Gattung *Hyalopus*.

Seine Kultur schien interessant, weil ihm in der chemisch reinen Normallösung von Ammoniumchlorid Mineralsalze nur in sehr großer Verdünnung geboten waren und eine Kohlenstoffquelle theoretisch überhaupt fehlte.

Durch Überimpfen des Mycels auf verschiedene Nährböden ließen sich leicht Rohkulturen des Pilzes herstellen, von denen eine aus einer einzelnen Spore stammende Reinkultur gezogen wurde.

Beschreibung des Pilzes.

Der Pilz wuchs auf gut ernährenden festen Substraten mit schneeweißem, dichtem Mycel, das eine völlig kompakte Decke von einigen Millimetern

Höhe bildete. Sporen waren makroskopisch nicht zu erkennen. Am Rande der Kolonie befand sich meist ein 1—3 mm breiter Saum, der grau erschien und besonders aus dem Substrat anliegenden Hyphen bestand, die noch nicht fruktifiziert hatten. Die Umrisse der hyalinen Hyphen waren im Substrat ganz schwach gewellt, auf dem Substrat und in der Luft ganz gerade. Ihre Dicke betrug 1—2 μ , sie waren unregelmäßig septiert und hatten meist körnigen, zuweilen vakuoligen Inhalt.

In etwa 1 mm Abstand von der wachsenden Spitze wuchsen feste, gerade Hyphen von dem Mycel aus senkrecht in die Höhe. Wenn sie eine Länge von 20—40 μ erreicht hatten, fand sich an ihrer Spitze eine kleine Schleimkugel. In dieser Kugel befanden sich die Konidien. Die Kugel schwankte je nach dem Alter des Konidienträgers durchschnittlich zwischen 6 und 13 μ . Die jungen Konidienträger waren unverzweigt, bei den älteren kam vielleicht Verzweigung vor (Fig. 1, Tafel I, Fig. 1 u. 2). Verfolgte man einen Faden von der Spitze rückwärts, so traf man zuerst nur einzeln stehende Konidienträger, dann traten sie paarig und noch weiter hinten in Wirteln von 3 bis 6 Stück (meist 4) auf und gingen schließlich in eine Form über, bei der die

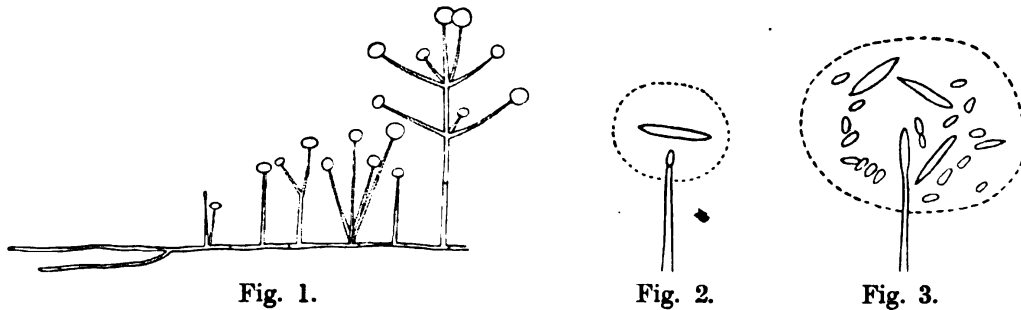


Fig. 1. Etwas schematisierte Darstellung eines Hyphenendes mit Konidienträgern.
Fig. 2 und 3. Junger und älterer Konidienträger mit zerflossener Schleimkugel.
Bei dem jungen Träger wird die zweite gebildete Spore gerade abgeschnürt, bei dem älteren wird eine lange Konidie gebildet.

Wirtel mit einer unregelmäßigen Zahl von Ästchen in mehreren Etagen übereinander standen. Ob wir in diesem Fall berechtigt sind, diese etagenförmigen Gebilde als Ganzes noch als Konidienträger zu bezeichnen, lasse ich unentschieden. Ganz analoge Gebilde konnten nämlich dadurch entstehen, daß eine Lufthyphye, die vom Substrat in die Höhe gewachsen war, sich mit Wirteln von Konidienträgern umgab.

Die Abstände zwischen den Konidienträgern waren unregelmäßig 5 bis 20 μ .

Die Schleimblase, die sich an der Spitze jedes Wirtelästchens befand, war entweder kugelförmig (Tafel I, Fig. 7) oder sie zeigte an zwei sich genau gegenüberliegenden Stellen, deren Verbindungslinie fast stets senkrecht zur Längsachse des Trägers stand, je eine Ausstülpung (Tafel I, Fig. 6). Die Ausstülpungen waren die beiden Enden einer großen Spore, die auf beiden Seiten aus dem Schleim herausragte. Bei sorgfältigem Arbeiten gelang es, ein solches Schleimkügelchen so mit dem Deckglas zu bedecken und dabei zum Zerfließen zu bringen, daß sein Inhalt sich nicht mit dem der benachbarten Bläschen mischte (Fig. 2, 3). In dem auseinandergeflossenen Schleim lagen dann Konidien. Je nach dem Alter des Trägers war eine kleine oder große Zahl von Konidien vorhanden (1—40).

Die Sporen waren hyalin und elliptisch. In ihrem Innern war häufig

eine schwache Körnelung zu erkennen. Ihre Größe war auffallend verschieden (Taf. I, Fig. 3). Die größten, die bei jungen Schleimköpfen stets länger waren als der Durchmesser der Schleimkugel, waren durchschnittlich 9–10 μ lang und etwa 2 μ breit. Das Maximum, das gemessen wurde, war 15 μ . Von diesen Sporen, die an beiden Enden zugespitzt waren und fast spindelförmig sein konnten, lagen in den jüngeren Bläschen immer nur eine, in älteren aber bis 4. Die Hauptmasse der Sporen war etwa 4 μ lang und 2 μ breit. Die kleinen Sporen waren breit elliptisch und an ihren Enden stumpf. Zwischen den großen und den kleinen Sporen fanden sich nicht sehr häufig Übergänge.

Die Konidien wurden am Ende der Träger abgeschnürt (Fig. 4–11, Taf. I, Fig. 4–7). Der sich nach der Spitze verjüngende Träger (Basis 2–2½ μ , Spitze 1–2 μ dick) bildete an seinem Ende zuerst eine als ganz kleines Köpfchen erkennbare Anschwellung, die zur Spore heranwuchs. Die

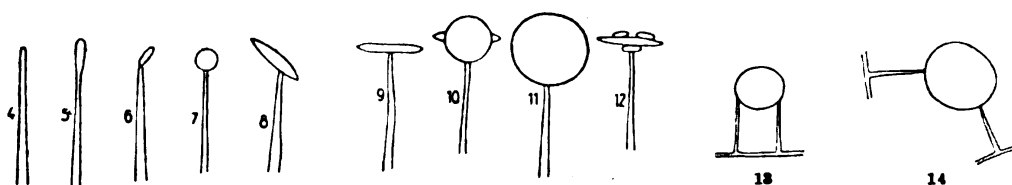


Fig. 4 bis 12. Konidienbildung. 4. Träger ohne Konidie. 5. Bildung einer langen Konidie. 6. Kurze Konidie im Augenblick der Ablösung. 7. Junger Träger mit Schleimköpfchen, noch ohne Konidien. 8. Lange Spore beim Übergang in die Querlage. 9. Querlage der ersten gebildeten langen Konidie. 10. Anlagerung von Schleim an die Konidie. 11. Die Konidie ist völlig von Schleim umhüllt. 12. Abnormer Konidienträger, der nach Bildung von drei Sporen noch frei von größeren Schleimmengen ist.

Fig. 13 und 14. Die Schleimköpfchen zweier Träger zu einem einzigen zusammengefloßen.

Längsachse der Spore und ihres Trägers lagen stets parallel. Schleim war in diesem Entwicklungsstadium meist nur sehr wenig vorhanden. Die reife Spore schnürte sich ab, konnte aber, durch den Schleim gehalten, nicht abfallen, sondern legte sich — wohl rein auf Grund physikalischer Gesetze — senkrecht über ihren Träger. Die Schleimproduktion wurde jetzt reichlicher, und bald war die Spore von einer Schleimkugel umgeben, aus der nur noch ihre Enden herausragten. Dieser stark lichtbrechende Schleim verhinderte leider jegliche weitere Beobachtung. Die Enden der Spore verschwanden allmählich in der größer werdenden Schleimmasse. Durch Öffnen vieler verschiedenartiger solcher Kügelchen habe ich mich überzeugt, daß alle Konidien von dem Träger abgeschnürt wurden.

Durch mehrere Hundert Zählungen verschieden alter Köpfchen ließ sich eine gewisse Regelmäßigkeit in dem Auftreten der langen und kurzen Konidien erkennen. Die erste Konidie war in den allermeisten Fällen eine lange, ihr folgten mehrere kurze und dann wieder eine lange Konidie, die wieder von kurzen mit folgender langer Spore abgelöst wurde. Auf 6–10 kurze Konidien kam im Durchschnitt eine lange. Ich zählte jedoch vereinzelt auch ganz andere Zusammensetzungen.

Die Schleimmasse entstand nicht immer in gleicher Menge an den Konidienträgern. Meist war sie reichlich vorhanden, sehr selten ließen sich Beobachtungen machen, bei denen sich wenige Sporen ohne eine Schleimhülle an dem Ende eines Konidienträgers befanden, hier offenbar durch ganz geringe Schleimmengen verklebt und festgehalten (Fig. 12). Berührten sich die Schleimköpfe von zwei verschiedenen Konidienträgern, so flossen sie zu einer großen Kugel zusammen (Fig. 13–14).

Die Schleimbildung war meistens auf die Enden der Konidienträger beschränkt, selten traten Schleimkügelchen auch am Mycel auf. Sie erreichten hier dann fast stets riesige Dimensionen und waren durchschnittlich 5—10-mal größer als die Köpfchen der Konidienträger.

Beobachtete ich den Pilz in der feuchten Kammer, so bemerkte ich nicht selten eine ruckweise Bewegung der Querspore der Konidienköpfchen. Sie drehte sich ähnlich wie ein gleicharmiger Hebel, durch dessen Drehpunkt die Spitze des Trägers geht. Eine Regel in der Bewegung ließ sich nicht erkennen. Es kamen Übergänge vor zwischen selten auftretenden, ganz gleichmäßigen Drehungen, bei denen im Verlauf einiger Stunden eine geschlossene Kreisbahn zurückgelegt wurde und andererseits häufigem ruckweisen Hin- und Herpendeln, bei dem 90° in einigen Minuten durchlaufen wurden. Diese Erscheinung dürfte wohl darauf beruhen, daß bei der Neubildung von Konidien ein allmähliches Verschieben der frisch entstandenen Konidie stattfand und dabei die bereits vorhandenen Konidien ebenso allmählich in ihrer Lage verändert wurden oder auch sich zusammenschoben, dabei aus ihrer Gleichgewichtslage kamen und plötzlich wieder in eine Ruhelage zurückschnellten. Fig. 6a bis c der Tafel zeigt die Lageveränderung einer Konidie in Abständen von je 10 Minuten.

Stellung im System.

Unser Pilz ist ein Fungus imperfectus aus der Ordnung der Hyphomyceten. Er gehört zur Familie der Mucedineen, Abteilung Hyalosporien, und zwar in die Unterabteilung der Cephalosporieen und ist ein Vertreter der Gattung *Hyalopus* Corda.

Nach Lindau besteht der einzige Unterschied zwischen der Gattung *Hyalopus* und der ihr nächstverwandten Gattung *Cephalosporium* darin, daß die Konidien bei *Hyalopus* in einem Schleimköpfchen liegen, während sie bei *Cephalosporium* zwar ebenfalls durch Schleim zu einem Köpfchen vereinigt sind, aber durch viel geringere Mengen Schleim und infolgedessen leichter auseinanderfallen. Lindau spricht die Vermutung aus, daß *Cephalosporium* nichts anderes sei, als ein unter trockenen Bedingungen gewachsener *Hyalopus*, ist jedoch gegen eine Vereinigung der beiden Gattungen, bevor nicht einige Arten von *Hyalopus* genauer bekannt sind. Sehr zugunsten dieser Anschauung sprechen Beobachtungen Nypels an *Hyalopus populi* und neuere Angaben Buchanans, die sich auf Kultur von *Cephalosporium* stützen.

Eigene Versuche führten zu dem gegenteiligen Resultat. Ich kultivierte den Pilz auf 2-proz. Agar in mikroskopischen feuchten Kammern, in geschlossenen Petrischalen, in offenen Petrischalen, die mit einem großen Glassturz überdeckt waren, in Petrischalen, die ohne Deckel im August auf dem Tische eines nach Süden und Westen mit großen Fenstern versehenen Eckzimmers standen, in dem infolge ganztägiger Besonnung die Luft sehr trocken war, und in offenen Petrischalen im Exsikkator über konzentrierter Schwefelsäure. Das Wachstum im Exsikkator war nur von sehr kurzer Dauer. Infolge völliger Austrocknung des Substrates ging der Pilz nach einigen Tagen Aufenthalt im Exsikkator zugrunde. Die in dieser Zeit gebildeten Konidienträger trugen jedoch winzige Schleimköpfchen. Ebenso waren in allen anderen Kulturen Schleimkügelchen gebildet. Die in trockener Luft entstandenen waren etwas kleiner als die in feuchter Luft gebildeten.

Auf seltene Ausnahmefälle, in denen wenig Schleim gebildet wurde, wies ich oben schon hin. Die Beobachtung dieser wenigen Ausnahmen berechtigt jedoch wohl kaum dazu, die ganze Gattung *Hyalopus* zu streichen und mit *Cephalosporium* zu vereinigen. Typisch ist zweifellos das Vorhandensein des Schleims auch bei trockener Kultur.

Alle neun bei Lindau beschriebenen Arten von *Hyalopus* haben nur gleich große Konidien. Da unser Pilz sich jedoch durch verschieden große Sporen auszeichnet, stellt er zweifellos eine noch nicht beschriebene Art dar. Ich schlage für ihn den Namen *Hyalopus heterosporus* vor.

Keimung der Konidien.

Die Konidien keimten leicht auf den verschiedensten festen und flüssigen Nährmedien mit organischer Nahrung, in Minerallösung ohne Kohlenstoffquelle und in destilliertem Wasser. Die Sporen quollen anfangs auf, wobei ihr Inhalt sich differenzierte; meistens traten Vakuolen auf. Bei guter Ernährung keimten sie nach etwa einem Tag, bei schlechter später. Es entstanden einer oder zwei Keimschläuche an den spitzen Enden der Konidien. Selten entstand der Keimschlauch an der Querseite der Konidie (Fig. 15—17). Ein Unterschied in der Keimung der großen und kleinen

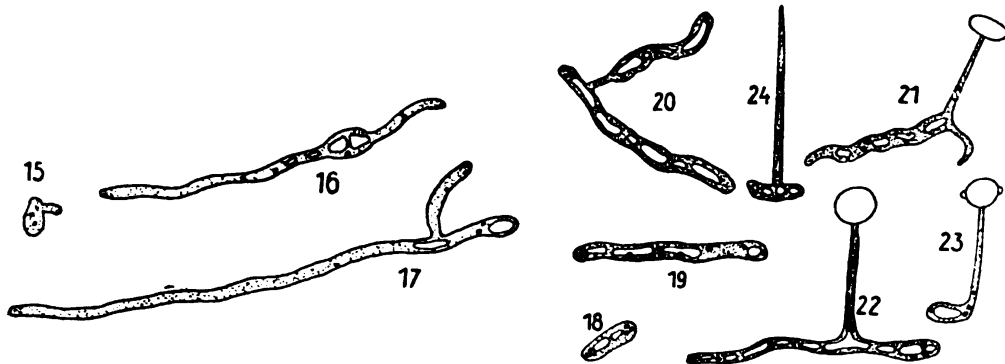


Fig. 15 bis 17. Sporenkeimung auf guten Nährsubstraten.

Fig. 18 bis 24. Entwicklungsstadien des Pilzes in einer einwöchigen Kultur in *Aqua destillata*. Fig. 18. Gequollene und vakuolisierte Konidie, die keinen Keimschlauch gebildet hat. 19, 20. Spärliches Mycel ist gebildet, das in 21, 22 fruktifiziert hat. 23, 24. Bildung von Konidienträgern direkt aus der Konidie ohne Keimschlauch.

Sporen wurde nicht beobachtet. Je nach der Ernährung entwickelte sich nun ein weitverzweigtes vegetatives Mycel, das am zweiten oder dritten Tage fruktifizierte, oder nur ein kurzer, vakuolenreicher Keimschlauch, der sich entweder nicht weiter entwickelte oder bei einer Länge von 5—40 μ einen Konidienträger bildete (Fig. 18—24). Im extremen Fall sproßte der Konidienträger direkt aus der Spore hervor und bildete sofort wieder ein Konidienköpfchen.

Verhalten zur Reaktion des Nährbodens.

Der Pilz gedieh auf saurem, neutralem und alkalischem Nährboden. Im Gegensatz zu den meisten Pilzen wuchs er am besten auf neutralem oder schwach alkalischem Nährsubstrat und war gegen freie Säure sehr empfindlich.

Einige Fälle eines ähnlichen Verhaltens sind bereits bekannt. Nach Klebs wird *Saprolegnia* durch 0,001 Proz. freier Weinsäure schon geschädigt, obgleich sie in anderen schwach sauren Medien ohne Schaden wächst.

Freie Buttersäure, Propionsäure, Baldriansäure wurde von Reinke als schädlich für *Penicillium* erkannt, während die Ammonsalze der betreffenden Säuren ein üppiges Wachstum gestatteten.

Die Säureempfindlichkeit mancher Basidiomyceten teilt Brefeld (I) mit.

Ascophanus carneus wächst, wie Ternetz angibt, auf schwachen Lösungen freier organischer Säuren nicht, ist dagegen relativ resistent gegen alkalische Lösungen. Das Mycel verträgt z. B. bei guter Ernährung noch 1,5 Proz. Soda.

Ich (I) kultivierte *Xylaria Hypoxylon* mit allerdings nur mäßigem Erfolg auf alkalischem Substrat, und Wehmer (II) zeigte an der Reinkultur gewöhnlicher Schimmelpilze, daß sie auch in schwach alkalischer Lösung gut gedeihen.

Die weitaus größte Zahl der Pilze bevorzugt aber saure Nährböden (Küster I, Benecke I).

Die Wirkung der Alkaleszenz auf die Keimung im Hängetropfen geht sehr deutlich aus den in Tabelle 1 zusammengestellten Werten hervor. Die Alkaleszenz der Lösungen wurde durch Zusatz verdünnter Kalilauge, die Säure, soweit der Boden nicht an sich schon sauer war, durch verdünnte Schwefelsäure erreicht. Eine schädliche Wirkung der Schwefelsäure war nicht zu erwarten, da nach Rumbold gerade diese Säure gut vertragen wird.

Tabelle 1.

Keimung 24 Stunden nach der Aussaat auf Lösungen mit verschiedener Reaktion.

Minerallösung ¹⁾ mit Zusatz von	Schwach sauer	Schwach alkalisch
$\frac{1}{2}\%$ Äthylalkohol	20%	80%
$\frac{1}{2}\%$ Ameisensäure	0%	30%
$\frac{1}{2}\%$ Oxalsäure	0%	40%
$\frac{1}{2}\%$ Milchsäure	50%	90%
$\frac{1}{10}\%$ Traubenzucker	60%	90%
Ohne Zusatz	40%	90%

Auch die Zeit des Eintritts der Fruktifikation des Pilzes wurde durch die Reaktion des Nährbodens beeinflußt. Es wurde nicht stets, aber in manchen Fällen, der Eintritt der Konidienbildung durch Säure um einen Tag verzögert. Sehr auffallend war diese Wirkung bei Kultur auf Kaffeinlösung, wo die Konidienbildung auf saurem Boden überhaupt unterblieb, auf alkalischem dagegen am elften Tage eintrat (bei nicht giftigen Böden am zweiten oder dritten Tag).

In der feuchten Kammer verwischten sich die Unterschiede bei längerem Wachstum häufig fast völlig, sehr deutlich blieben sie aber in Massenkulturen in 100 ccm-Kölbchen erhalten²⁾. Dies zeigt Tabelle 2.

¹⁾ Die zu sämtlichen Versuchen verwendete Minerallösung hatte folgende Zusammensetzung:



²⁾ Auf solche Unterschiede macht schon Brefeld (II, III) aufmerksam, der darauf hinweist, daß man Gärungsuntersuchungen an Hefen nur in Massenkulturen anstellen kann.

Tabelle 2.

Wachstum des Pilzes auf Lösungen mit verschiedener Reaktion.

(Die Kulturen standen 1 Monat bei Zimmertemperatur. + bedeutet gewachsen, 0 nicht gewachsen.)

Minerallösung mit	Schwach sauer	Schwach alkalisch
$\frac{1}{2}\%$ Methylalkohol	0	+
$\frac{1}{2}\%$ Äthylalkohol	0	+
$\frac{1}{2}\%$ Oxalsäure	0	+
$\frac{1}{2}\%$ Ameisensäure	0	+
$\frac{1}{2}\%$ Essigsäure	0	+
$\frac{1}{2}\%$ Apfelsäure	0	+

Bei weiteren Nährlösungen (siehe Tabelle 3) war der Unterschied auch vorhanden, jedoch nicht so auffallend, weil dort auch auf saurem Boden Wachstum eingetreten war.

Schließlich ließ sich die Säurewirkung auch noch bei der Konidienausbildung beobachten. In den meisten Kulturen waren die Konidien sowohl an Zahl als auch an Größe in sauren und alkalischen Böden völlig gleich, auf Glycerin war dagegen die Durchschnittslänge der großen Konidien bei neutraler Reaktion 9–10 μ , bei saurer Reaktion dagegen durchschnittlich nur 5–6 μ .

Die schädigende Wirkung der Säure war klein, wenn nur ganz geringe Mengen von vielleicht spezifisch wirksamen Säuren zugegen waren. Bei Kultur auf Traubenzuckeragar bildete der Pilz selbst Säure, ohne anfangs sehr stark im Wachstum behindert zu werden. Die Säuremenge war offenbar sehr klein, denn bei Kultur auf neutralem Zuckerlackmusagar bildete sich ein ganz schwach roter Farbton unter der Kultur, der nur sehr langsam sich über die Platte verbreitete, während in Vergleichskulturen von *Penicillium* eine ganz intensive, sich rasch ausbreitende Rötung eintrat.

Verhalten auf kohlenstofffreien Nährböden.

Der Fundort des Pilzes in Normallösung von Ammoniumchlorid deutete auf ein eigenartiges Verhalten in bezug auf die Kohlenstoffernährung hin.

Da die NH_4Cl -Lösung theoretisch keinen Kohlenstoff enthält, der Pilz aber zu seinem Leben Kohlenstoff nötig hat, so dachte ich natürlich an eine Verunreinigung der Lösung und brachte den Pilz in eine chemisch reine Minerallösung von der auf p. 32 angegebenen Zusammensetzung; sie enthielt jedoch statt 0,5 ‰ KNO_3 0,5 ‰ NH_4Cl .

Der Pilz wuchs spärlich auch hierauf. Die verwendeten Salze waren wie bei allen Kulturen von *Kahlbaum* bezogen und durch Garantieschein als chemisch rein verbürgt. Trotzdem schien mir eine Verunreinigung des Ammoniumchlorids durch Karbamide nicht ausgeschlossen zu sein, ich ersetzte es deshalb durch KNO_3 . Der Pilz vermochte den Stickstoff ebensogut aus dem Nitrat wie aus dem Ammon aufzunehmen, denn er wuchs auch auf der neuen Lösung und zwar ganz unverändert.

Um Verunreinigungen, die im Aqua destillata des Laboratoriums vorhanden sein mochten, auszuschließen, bereitete ich selbst destilliertes Wasser in absolut sauberen Glasgefäßen. Um Berührung des Wassers mit der Laboratoriumsluft, die immer Dämpfe von Alkohol, Essigsäure und anderen

flüchtigen C-Verbindungen enthält, zu vermeiden, destillierte ich das Wasser im botanischen Garten im Freien.

Alle Kulturen wurden in Kolben gemacht, die mit Kaliumbichromat und Schwefelsäure sorgfältig gereinigt worden waren. Als Verschluß benutzte ich anfangs chemisch reine Verbandwatte, später reines schwedisches Filterpapier, das nicht faserte und straff über den Hals des Kolbens gebunden wurde.

Die Kulturen wurden im Gewächshaus, das sehr gute Luft enthielt, im Garten und an verschiedenen Orten im Institut aufgestellt, wo die Luft

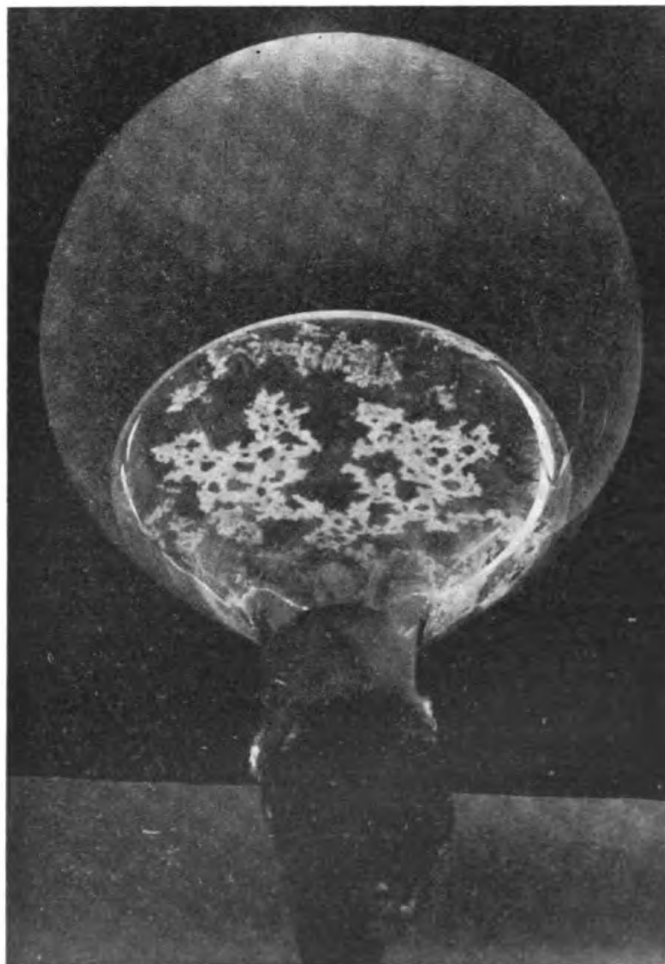


Fig. 25. Photographie (verkleinert) einer 12 Tage alten Kultur auf kohlenstoffreier Mineralsalzlösung. 6 Monate später war die ganze Oberfläche der Flüssigkeit überwachsen.

mehr oder weniger verunreinigt war. Ein Unterschied in der Entwicklung zeigte sich nicht. Wenn Verunreinigungen der Luft in Form von Dämpfen organischer Verbindungen, wie das von Elfing und von Beijerinck beobachtet wurde, ernährend wirken, müssen diese Substanzen nicht auf die Laboratoriumsluft beschränkt, sondern auch im Freien vorhanden sein.

Figur 25 zeigt eine im Zimmer gehaltene Kultur auf kohlenstoffreier Minerallösung im Alter von 12 Tagen. Im Laufe weiterer 6 Monate entwickelte sich der Pilz zu einer zwar sehr dünnen, aber völlig zusammenhängenden Decke.

Eine Verwendung der freien Kohlensäure der Luft für die Ernährung des Pilzes war von vornherein nicht wahrscheinlich. Zur Kontrolle wurde bei einer Anzahl von mit durchbohrtem Gummistopfen luftdicht verschlossenen Kolben die CO_2 durch eine KOH-Vorlage ferngehalten. Der Pilz entwickelte sich trotzdem.

Um den Einfluß von Verunreinigungen zu prüfen, die eventuell durch die Salze in den Nährboden eingebracht waren, machte ich folgenden Versuch: Verschiedene Kolben wurden mit mineralischer Nährlösung gefüllt; eine Serie enthielt je 20 ccm, eine andere je 100 ccm und schließlich eine letzte je 600 ccm. Ich wählte solche Kolben aus, bei denen es möglich war, trotz der verschiedenen Flüssigkeitsmenge eine gleich große Oberfläche der Flüssigkeit zu haben. Jeder Kolben wurde mit einer Platinöse einer Sporenaufschwemmung in Aqua destillata geimpft. War die Verunreinigung des Nährbodens für die Ernährung des Pilzes maßgebend, so mußte in den 600 ccm enthaltenden Kolben eine wesentlich bessere Pilzentwicklung stattfinden als in denen mit 20 ccm. Ein geringer Unterschied war tatsächlich vorhanden. Das Pilzwachstum war in keinem Falle üppig, sondern mußte durchaus als spärlich bezeichnet werden, in den großen Kolben war es aber etwas besser als in den kleinen. Eine Wiederholung des Versuches ergab dasselbe Resultat, die Unterschiede in den Kulturen waren aber in beiden Versuchen im Vergleich zu dem 30-fachen Nahrungsunterschied so gering, daß sie auch auf Zufälligkeiten beruhen konnten.

Wurde eine etwa einen Monat alte Kultur auf einem Liter Minerallösung durchgeschüttelt, so daß das Mycel zu Boden sank, so keimten die Konidien, die also in der Hungerkultur gebildet worden waren, wieder aus und bildet abermals Konidien. Diese zweite Generation des Pilzes war aber bedeutend schwächer entwickelt als die erste. Natürlich war es nicht ausgeschlossen, daß wachstumshemmende Stoffwechselprodukte (Nikitinsky, Harder II, Küster II) die zweite Entwicklung beeinträchtigt hatten, bei den äußerst geringen Pilzmengen im Vergleich zu der großen Flüssigkeitsmasse dürfte ihnen aber keine große Bedeutung zugesprochen werden. Daß nicht die Erschöpfung der Nahrung aus den Verunreinigungen der Salze verantwortlich ist, wurde durch Zusatz frischer Mineralsalze erwiesen. Die damit verbundene Erhöhung der Konzentration jedes einzelnen Salzes von 0,5 ‰ auf 1 ‰ kann nicht schädigend wirken. Dieser Versuch scheint mir vielmehr darauf hinzudeuten, daß die in der Spore gespeicherten Reservestoffen eine wesentliche Rolle bei der Mycelbildung spielen, weil die in Hungerkultur gebildeten Sporen ein schlechteres Wachstum zuließen als die auf gutem Nährboden entstandenen.

Der Pilz vermochte selbst im reinsten destillierten Wasser ohne Mineralsalzzugabe zu gedeihen. Zweifellos erlangte er die nötigen Mengen der Salze aus den Wandungen der Glasgefäße, was nach Benckes (III) Untersuchungen als nichts Besonderes betrachtet werden kann. Seine Entwicklung war aber äußerst schwach und sehr viel geringer als auf der ebenfalls C-freien Minerallösung. Trotzdem fruktifizierte der Pilz.

Das relativ üppige Wachstum des Pilzes auf kohlenstoffreier Minerallösung, sowie seine Keimung- und Fruktifikation in Aqua destillata sind recht auffällig, denn meistens bedarf es schon zur Keimung der Sporen irgendeiner Substanz, die im Wasser gelöst ist.

Allerdings sind auch Fälle bekannt, in denen Sporen auf Wasser keimten. Das schildert z. B. Erikson von den Sporen verschiedener Rostpilze,

Büsgen sah es bei Erysiphe und Botrytis eintreten und Coob beobachtete dasselbe bei einer ganzen Anzahl von holzbewohnenden Pilzen. Brefeld (I) berichtet auch über Sporenkeimung in Wasser, betont aber, daß diese Ausnahmen fast stets Formen mit großen Sporen oder Parasiten sind, daß bei den allermeisten Pilzen dagegen völlige Passivität der Sporen oder nur die ersten Anfänge einer Keimung in Wasser zu beobachten sind.

In den meisten in der Literatur angegebenen Fällen dürfte wohl nicht reines Aqua destillata, sondern Leitungswasser oder schon längere Zeit im Laboratorium aufbewahrtes Aqua destillata verwendet worden sein, wobei dann natürlich niemals eine Garantie für das wirkliche Fehlen von anorganischen und organischen Verunreinigungen vorhanden ist.

In wie geringer Menge die zur Keimung wirksamen Stoffe erforderlich sind, zeigt die Beobachtung Negers, der die Keimung von Sporen von *Bulgaria polymorpha* kräftig gefördert sah, wenn neben die sporenhaltigen Wassertropfen Rinden-, Holz- oder Blattstücke gelegt wurden; offenbar handelte es sich um gasförmige, durch die Luft übertragene Stoffe, welche hier die Keimung anregen.

Während nur in Ausnahmefällen eine Keimung auf Wasser stattfindet, sind mir Fälle, in denen ein geschlossener Entwicklungsgang eines Pilzes in reinstem destillierten Wasser vor sich geht, unbekannt.

Von Bakterien wissen wir besonders durch die klassischen Untersuchungen Winogradsky's, daß ihnen eine Ernährung aus der Kohlensäure der Luft möglich ist. Analoges wurde bei den Pilzen bisher nicht beobachtet.

Zu erwähnen sind hier die Fälle von direkter Fruktifikation von Pilzsporen, die Brefeld (I) mitteilt. Nach seiner Beobachtung sind dazu geschlechtlich entstandene Sporen und Chlamydosporen befähigt. Diese Sporensorten sollen aber zur Erhaltung der Art, nicht zu ihrer raschen Verbreitung dienen, sie sind daher mit viel größeren Mengen von Reservesubstanzen ausgerüstet als die Konidien. Ein Analogon zu dem von uns beobachteten Fall haben wir damit also nicht vor uns.

Dagegen ist sowohl für Bakterien (Beijerinck und van Delden) wie für Pilze (Elfing) die Ernährung aus den Verunreinigungen der Laboratoriumsluft höchst wahrscheinlich gemacht. Elfing säte Sporen von *Briaraea* auf eine rein mineralische Nährlösung und erhielt darauf in 14 Tagen eine deutliche, allerdings spärliche Mycelentwicklung, die kümmerlich fruktifizierte. Durch Abschluß der CO_2 der Luft wurde festgestellt, daß eine Assimilation der Kohlensäure nicht stattfand. Es blieb als organische Nahrung nur die in der Luft vorhandene organische Substanz. Ein anderer Pilz mit sehr ökonomischer Kohlenstoffverwendung ist auch wohl *Blastotrichum oligocarpum*, der Elfings Angabe zufolge in $\text{n}/14 \text{ H}_2\text{SO}_4$ wuchs. Sein Wachstum wurde durch Paraldehyd gefördert, was auf die eventuell für den Pilz in der Schwefelsäure in Betracht kommende Kohlenstoffernährung hindeutet.

Den günstigen Einfluß der von Baumteilen ausgehenden Gase, die Neger beobachtete, zitierte ich schon.

Einen weiteren Beleg für die Genügsamkeit von Pilzen bringt die Angabe Bokornys (V), wonach noch Verdünnungen 1 : 40 000 Methylalkohol ernährend wirken. Gasförmige Verunreinigungen solcher Art sind natürlich sehr leicht in der Laboratoriumsluft vorhanden.

Wo wir bei unserem Pilz die Kohlenstoffquelle zu suchen haben, muß eine offene Frage bleiben. Von Wichtigkeit scheinen die Reservesubstanzen der Konidien zu sein, daneben werden aber Verunreinigungen des Nährsubstrates wie auch der Luft ihren Einfluß ausüben. Sicher ist nur, daß der Organismus außerordentlich genügsam ist.

Wachstum bei Ernährung mit verschiedenen Kohlenstoffverbindungen.

Bei der Genügsamkeit des Pilzes war zu vermuten, daß er sich aus den verschiedensten Kohlenstoffquellen gut ernähren könnte.

Die oben erwähnte Minerallösung versetzte ich mit $\frac{1}{2}$ und 1% der auf ihren Nährwert zu prüfenden Kohlenstoffquelle. Da diese Verbindungen zum Teil flüchtig waren, wurde nur die Minerallösung sterilisiert und die betreffende Substanz später unter Vermeidung von Luftinfektion hinzugefügt. Ich verwendete stets je 100 ccm Nährlösung, die in 200 ccm-Stehkölbchen gefüllt waren. Die Nährlösungen kamen zur Hälfte schwach sauer, zur Hälfte schwach alkalisch zur Verwendung. Die Reaktion wurde, soweit das nötig war, durch Zusatz von H_2SO_4 oder KOH bewirkt. In den sauren Kulturen war also freie Säure vorhanden, in den alkalischen war die freie organische Säure durch die Lauge gebunden. Die Kölbchen wurden mit möglichst gleichmäßigen Mengen Sporen (je eine Platinöse aus einer Aufschwemmung) beimpft.

Die Tabelle 3 zeigt uns, daß der Pilz sich bei Zimmertemperatur durchaus nicht aus jeder Kohlenstoffverbindung zu ernähren vermochte.

Tabelle 3.
Pilzwachstum in 4 Wochen alten Kolbenkulturen.

	Sauer	Neutral	Alkalisch
Aqua destillata		+	
Minerallösung	++		+++
Methylalkohol	0		++++
Äthylalkohol	0		+++++
Amylalkohol	0		0
Glyzerin	?		+++++
Ameisensäure	0		+++
Essigsäure	0		+++++
Buttersäure	0		0
Palmitinsäure	++++		+++++
Oxalsäure	0		+++
Milchsäure	+++++		+++++
Apfelsäure	0		+++++
Weinsäure	++++		++++
Zitronensäure	+++++		+++++
Asparagin	?		+++++
Traubenzucker	++++		+++++
Schleimsäure	+++		++++
Chinasäure	++++		+++++
Harnsäure	?		+++
Kaffein	0		0

Am besten war das Wachstum auf schwach alkalischem Traubenzucker. In der vier Wochen alten Kultur hatte sich eine einen halben Zentimeter dicke Myceldecke gebildet. Gut war die Entwicklung auch auf Glyzerin und auf Zitronen-, China- und Milchsäure. Die Pilzdecke wies aber schon vereinzelte Lücken auf, was auf ein relativ langsames Wachstum der aus den einzelnen

Sporen hervorgegangenen Mycelinseln hindeutete. Palmitinsäure, Äpfel- und Essigsäure hatten einen etwas schlechteren Nährwert, auf ihnen bildete der Pilz aber auch noch gute Decken, ebenso auf Asparagin und Äthylalkohol. Der Nährwert von Methylalkohol war erheblich geringer, eine zusammenhängende Decke wurde darauf im Laufe eines Monats nicht mehr gebildet, sondern die aus den eingepflichten einzelnen Sporen oder Sporenhaufen entstanden waren, blieben isoliert voneinander. Ähnlich war das Wachstum auf Weinsäure und Schleimsäure.

Harnsäure, Ameisensäure und Oxalsäure waren als Nährquellen für den Pilz fast oder völlig wertlos. Auf den Kulturen, die mit ihnen angesetzt wurden, wuchs der Pilz zwar, er bildete jedoch nur einen feinen lückenhaften Überzug auf der Flüssigkeitsfläche, der sich von dem auf Minerallösung ohne irgendeinen organischen Zusatz nur sehr wenig unterschied.

Noch schlechter war das Wachstum auf destilliertem Wasser.

Giftig für den Pilz waren Amylalkohol, Buttersäure und Kaffein.

Erntegewichte wurden nicht festgestellt, da es mir nicht darauf ankam, den Nährwert der einzelnen Kohlstoffquellen ganz genau zu ermitteln, sondern mich nur allgemein zu orientieren über das ungefähre Verhalten zu verschiedenen Nährstoffen.

Eine allgemeine Regel über den Nährwert von Kohlenstoffverbindungen läßt sich bekanntlich nicht aufstellen¹⁾. Die von N ä g e l i verfaßte Nährskala hat sich nicht als ausnahmslos gültig erwiesen. Im großen ganzen stimmt das Verhalten unseres Pilzes jedoch ganz gut zu der von N ä g e l i gefundenen Reihenfolge des Nährwertes.

Der gute Nährwert von Zucker, Chinasäure, Zitronensäure, Glyzerin, Äpfelsäure, Essigsäure, Asparagin bietet nach den Angaben in der Literatur (vgl. z. B. P f e f f e r, B e n e c k e II) nichts besonderes, obgleich nicht alle die Verbindungen stets nährend wirken. So fand W e n t, daß Salze der Zitronensäure für *Monilia* ohne Nährwert sind, und B r u h n e beobachtete, daß *Hormodendron Hordei* nicht auf Essigsäure gedeiht.

Der geringe Nährwert der Oxalsäure, der Harnsäure und der Ameisensäure ist nach den Befunden B r u h n e s, T h i e l e s, D i a k o n o w s und anderer zu verstehen. *Penicillium* wird nach W e h m e r s (I) Beobachtung durch Oxalatlösung und Harnstoff allerdings etwas ernährt. Ein naher Verwandter unseres Pilzes, *Cephalosporium rubescens*, wird durch Ameisensäure völlig getötet (S c h i m o n).

Auch der schädliche Einfluß der Buttersäure für Pilze ist allgemein bekannt (K ü s t e r I). Für Kaffein fand K l e b s an Saprolegnien giftigen Einfluß bei Konzentrationen über 0,1 Proz. Die giftige Wirkung von Amylalkohol wurde von C o u p i n an *Aspergillus niger* und auch von S t u t z e r beobachtet.

Der niedrige Nährwert der Weinsäure ist jedoch nicht ganz normal. W e h m e r (I), B r u h n e, W e n t, N i k i t i n s k y und andere, erzielten gute Resultate mit Weinsäure als Kohlenstoffquelle für ihre Pilze. K l e b s' sehr säureempfindliche *Saprolegnia* wurde zwar schon durch 0,005 Proz. freier Weinsäure getötet und durch 0,001 Proz. geschädigt, assimiliert aber weinsaure Salze.

¹⁾ Die im folgenden gemachten Literaturangaben über den Nährwert verschiedener Kohlenstoffquellen machen keinen Anspruch auf Vollständigkeit. Sie sollen nur als Beispiele für den Nährwert der betreffenden Verbindungen für andere Pilze dienen.

Auffallend ist der für unseren Pilz relativ hohe Nährwert der freien Milchsäure. Milchsäure ist ein im allgemeinen als schlecht erkannter Nährboden (Küster I, Pfeffer). Nach Duclaux ist sie im freien Zustand sehr schädlich für viele der gewöhnlichen Schimmelpilze. Demgegenüber fand Bruhne, daß *Homodendron hordei* durch Milchsäure ernährt wird, und Went konnte Wachstum von *Monilia* auf milchsauren Salzen beobachten. Auch nach Raciborsky ist Milchsäure kein schlechter Nährboden für *Basidiobolus*, und Wehmer (IV) sah *Oidium lactis* auf Milchsäure gedeihen. Daß eine sehr gute Entwicklung bei Anwesenheit von $\frac{1}{2}$ —1 Proz. freier Milchsäure stattfindet, dürfte aber doch wohl als Ausnahme betrachtet werden.

Äthylalkohol wurde von Duclaux und Coupin mit Erfolg für Pilzkulturen verwendet.

Dagegen ist Methylalkohol nach Coupins Befund für *Aspergillus niger* ohne Nährwert. Auch Reinke, der mit *Penicillium* und einigen Bakteriengemischen arbeitete, erhielt negative Resultate.

Spaltpilze sind allerdings bekannt, die sich von Methylalkohol ernähren können. Nach Loew ist *Bacillus methylicus* dazu befähigt, und Bokorny (I) teilt mit, daß sowohl Bakterien wie Hefen Methylalkohol als C-Quelle benutzen können und selbst aus Verdünnungen von 1 : 40 000 noch Nahrung schöpfen. Sogar höhere Pflanzen wie Bohnen und Erbsen sollen Methylalkohol als Nahrungsquelle benutzen können, über Wachstum von Fadenpilzen auf Methylalkohol teilt Bokorny (II) jedoch nichts mit.

Die einzige Angabe über positive Resultate bei Ernährung von Pilzen mit Methylalkohol findet sich meines Wissens bei Raciborsky, der *Basidiobolus* auf 2% Methylalkohol kultivierte und dabei sehr schwaches Wachstum beobachtete, das aber trotz seiner geringen Intensität noch stärker war, als das auf 2 Proz. Äthylalkohol.

Das gute Wachstum unseres Pilzes in den sauren Lösungen der Milchsäure und der Zitronensäure scheint mir ein weiteres Beispiel für den von Benecke (II) erwähnten Fall zu sein, daß nicht die Säuerung als solche, sondern auch die Art der Säure von Einfluß ist. Beneckes Angabe fußt auf der Beobachtung Maurizios, der fand, daß die sehr stark säureempfindliche *Saprolegnia* doch so viel Salicyl- und Borsäure verträgt, daß sie durch einen Zusatz davon gegen Bakterien geschützt werden kann.

Die Ernährung übte, wie zu erwarten, einen wesentlichen Einfluß auf die Sporenbildung aus. Auf Aqua destillata kam ein großer Teil der Sporen (90 Proz.) überhaupt nicht zur Sporenbildung. Da wo sie eintrat, war die Sporenzahl beschränkt gegenüber der auf guten Nährböden, und die einzelnen Sporen waren kleiner. Die Verhältnisse im einzelnen zeigt Tabelle 4.

Tabelle 4.
Konidienausbildung auf verschiedenen Nährböden.

	Anzahl der Konidien im Köpfchen	Durchschnittliche Länge der großen Konidien	Beobachtetes Extrem
Gute Nährsubstrate	10—30	10 μ	15 μ
Mineralsalz ohne organischen Zusatz	5—15	8,5 μ	11 μ
Aqua destillata	1—4	6 μ	8 μ

Auf destilliertem Wasser waren in den Köpfen meist 1—2 Koniden enthalten, auf allen guten Nährsubstraten, wie alkalischen Lösungen von Zucker, Glyzerin, einigen organischen Säuren dagegen am häufigsten etwa 15 Konidien, also fast das zehnfache. Die Sporengröße schwankte um fast das doppelte. Eine Mittelstelle nahm die von organischen Zusätzen freie mineralische Lösung ein.

Farbstoffbildung.

Das Mycel und die Konidien des Pilzes waren unter allen Bedingungen farblos. Dagegen fand in seltenen Fällen eine Farbstoffausscheidung in das Nährsubstrat statt, auf dem der Pilz kultiviert wurde. Auf allen im Kapitel über den Nährwert verschiedener Kohlenstoffquellen erwähnten Substraten blieb die Kulturflüssigkeit klar und farblos bis auf die in Tabelle 5 erwähnten Fälle.

Tabelle 5.
Farbstoffbildung in $\frac{1}{2}$ -proz. schwach alkalischen
Lösungen von:

Beobachtet Tage nach der Aussaat	Traubenzucker	Chinasäure	Milchsäure	Glyzerin
4	grün	farblos	farblos	farblos
13	gelblich	mattrot	farblos	farblos
31	bräunlich	orange	mattgrün	orange

Der Farbstoff wurde zuerst direkt unter der Pilzdecke beobachtet und breitete sich von dort aus nach unten in die Flüssigkeit aus. So erstreckte sich z. B. die grüne Färbung der Traubenzuckerlösung am vierten Tage 2 cm weit abwärts. In den tieferen Schichten war die Flüssigkeit noch farblos. Später wurde alles grün.

Die Farbstoffbildung durch Mikroorganismen ist bekanntlich weit verbreitet. Auch das Auftreten verschiedener Farben bei ein und demselben Pilz unter verschiedenen Bedingungen ist bekannt. So bildet sich z. B. nach B e s s e y in den Hyphen von *F u s a r i u m* bei saurer Reaktion des Nährbodens gelber, bei alkoholischer violetter Farbstoff.

Eine Ausscheidung von Farbstoff in die Kulturflüssigkeit ist unter anderen von M a r c M e d i s c h untersucht bei *H y p o c r e a r u f a*. Der Farbstoff war je nach den äußeren Umständen vorhanden oder fehlte. Die Färbung, die von M e d i s c h als ein eigentümlicher Oxydationsvorgang bezeichnet wird, begann meist mit grünen Tönen und ging später in gelb und orange über. Sie war also ähnlich wie bei unserem Pilz. Von Einfluß auf die Farbstoffbildung von *H y p o c r e a* war die Anwesenheit oder das Fehlen gewisser Salze. In unserem Falle können diese kaum eine Rolle spielen, da bei allen Versuchen die gleiche mineralische Grundlösung verwendet und nur die Kohlenstoffquelle variiert worden war.

Auch ein Umschlag in der Reaktion des Nährbodens kann nicht ausschlaggebend gewesen sein. Unser Pilz säuerte Traubenzuckeragar langsam an und sonderte dabei Farbstoff aus. Eine Zugabe von Säure oder Lauge zu dem grün oder gelblich gefärbten Substrat erzeugte keinen Farbumschlag.

Wachstumsgeschwindigkeit.

Der Pilz wuchs durchschnittlich in drei Tagen 2 μ bei guter Ernährung (3 Proz. Traubenzuckeragar neutral) und Zimmertemperatur.

Die Geschwindigkeit war nicht groß im Vergleich mit der, die bei anderen Pilzen beobachtet wurde. Die Fruchthyphen von *Phycomyces* wachsen nach *Errera* in der Minute durchschnittlich 20 bis 40 μ (Maximum 65,6 μ), was in 24 Stunden einen Zuwachs von 28,8—57,6 mm ergibt.

Bedeutend langsamer wächst *Peziza*, deren Wachstumsgeschwindigkeit von *Reinhardt* als 14—23 μ in der Minute, also 20,2—33,1 mm in einem Tag, erkannt wurde. Dieser Zuwachs des vegetativen Mycels von *Peziza* ist kleiner als der der Fruchthyphen von *Phycomyces*, aber trotzdem höher als der des vegetativen *Phycomyces*-Mycels. *Reinhardt* glaubt, das raschere Wachstum des *Peziza*-Mycels darauf zurückführen zu können, daß *Phycomyces* schon zeitig Fruchthyphen anlegt und seine Kraft in der Ausbildung der Fruchträger und Sporen erschöpft, während *Peziza* vor allem ein weitausgedehntes, kräftiges Mycel entwickelt und erst später zur Bildung von Sklerotien schreitet.

Mit dieser Annahme *Reinhardt's* läßt sich das langsame Wachstum unseres Pilzes mit 0,7 mm in einem Tag gut in Einklang bringen. Der Pilz bildet sehr frühzeitig Konidien, die Inanspruchnahme seiner Kräfte für diesen Prozeß ist daher gut denkbar. In Übereinstimmung mit dieser Annahme ist auch die Wachstumsgeschwindigkeit des sehr früh reichliche Mengen von Konidien bildenden *Penicillium's* zu erwähnen, die nach *Loew* nur durchschnittlich 0,2 μ in der Minute, also täglich 0,29 mm betragen soll.

Nur von der Sporenbildung wird die Wachstumsgeschwindigkeit aber nicht abhängig sein, sondern individuelle Eigentümlichkeiten werden eine wesentliche Rolle spielen.

Einfluß der Temperatur.

I. Verhalten der Sporen.

Reichliche Mengen von Sporen wurden in einem Reagensglas mit sterilem Wasser aufgeschwemmt, wobei sie sich sehr gleichmäßig verteilten. Mit dieser Flüssigkeit wurde der Nährboden, der besät werden sollte, übergossen. Als Nährboden benutzte ich Pepton 1 Proz., Liebig's Fleischextrakt 1 Proz., Traubenzucker $2\frac{1}{2}$ Proz., Agar 2 Proz. (Reaktion schwach alkalisch) in *Erlenmeyer*-Kölbchen. Die Kulturen wurden bei verschiedener Temperatur in kalten Räumen und in dem ausgezeichneten Warmerzimmer des botanischen Instituts in Leipzig, wo ich im Wintersemester 1913/14 arbeitete, aufgestellt. Die Kolben wurden nur makroskopisch beobachtet.

Tabelle 6.

Keimung der Sporen bei verschiedener Temperatur.

Temperatur . . .	3—6°	9½°	19°	22°	24°	26—27°	28—29°	31° C
Tag der Keimung	9	5	1	1	1	1—2	keine Keimung	keine Keimung

Aus Tabelle 6 sehen wir, daß die Sporenkeimung zwischen 19 und 27° C makroskopisch ziemlich gleichmäßig verläuft. Bei 9½° C bedurfte es der fünffachen, bei Wärmeschwankung zwischen + 3 und + 6° C der neunfachen Zeit gegenüber normaler Temperatur, um die Keimung zu ermöglichen, bei 28° C und höherer Temperatur fand überhaupt keine Keimung mehr statt (beobachtet mehrere Wochen).

Nach *Behrens* haben die gemeinsten Schimmelpilze ihr Optimum über 28°, ihr Maximum über 30° C. Die Temperaturgrenze unseres Pilzes liegt also relativ tief. Es sind jedoch viele Ausnahmen von dieser Regel bekannt.

Ich nenne hier nur den von Stoppel untersuchten Eremascus, der im Eisschrank besser gedeiht als bei Zimmertemperatur.

Wurden Kulturen unseres Pilzes, die bei supramaximaler Temperatur gehalten waren, in niedrigere (22° C) gebracht, so keimten sie noch aus, wenn der Aufenthalt nicht zu lange gewährt hatte. Tabelle 7 zeigt, daß schon nach wenigen Tagen eine Tötung der Konidien durch 31,5° C stattfand. Die Sporen zeigten sich also auch hier relativ empfindlich. *Penicillium* z. B. ist, wie Hilbrig mitteilt, bei Kultur unter ganz ähnlichen Bedingungen wie bei unseren Versuchen noch nach 19-tägigem Aufenthalt bei 35° C keimfähig.

Tabelle 7.
Tötungszeit für die Sporen durch 32,5° C.

Alkalische Minerallösung mit Zusatz von:	2½% Glukose ohne Agar	2% Agar ohne Glukose	2½% Glukose 2% Agar
Tötungszeit für die Sporen in Tagen	5	8	9

Der Beginn der Schädigung der Sporen unseres Pilzes ist aus der Tabelle nicht ersichtlich. Sie begann schon nach der Hälfte der Tötungszeit. Die Zahl der keimfähigen Sporen wurde von da ab täglich geringer, bis schließlich sämtliche getötet waren.

Von Einfluß auf die Tötungszeit der Sporen war der Nährboden, auf dem sie ausgesät waren (Tabelle 7). Eine ähnliche Beobachtung hat Wehmer (III) gemacht. Er fand, daß die Sporen von zwei *Aspergillus*-Spezies bei 37,5° C innerhalb vier Wochen auf flüssigem Substrat überhaupt nicht mehr gediehen, während sich auf Brot bei derselben Temperatur dürftige Entwicklung zeigte.

Über die Resistenz der Sporen am Mycel wurde die beiläufige Beobachtung gemacht, daß die Sporen durch fünfwöchigen Aufenthalt bei 28—29° C nicht getötet wurden und daß eine vierwöchige Einwirkung einer Kälte von — 2 bis — 8° C ebenfalls noch nachträgliche Keimung zuließ. Letzteres war zu erwarten, da die Resistenz von Sporen gegen Kälte bekannt ist und Schimmelpilzsporen selbst eine einwöchige Einwirkung der Temperatur von flüssiger Luft ohne wesentliche Schädigung ertragen. (MacFadyen und Rowland).

II. Wachstum des Mycels bei verschiedener Temperatur.

Etwas resistenter als die Konidien war das ausgewachsene Mycel gegen hohe Temperatur. Wir hatten gesehen, daß die Sporenkeimung bei Temperaturen von 28° C aufwärts unterblieb. Das Mycel wuchs noch bei dieser Temperatur, allerdings nur kurze Zeit.

Ich impfte den Pilz auf neutralen Traubenzuckeragar und ließ ihn bei Zimmertemperatur bis zu Kolonien von etwa 10 mm Durchmesser heranwachsen. Nun wurden die Kulturen im Warmerzimmer auf verschieden hohe Temperaturen gebracht. Die Zuwachswerte zeigt Tabelle 8, die aus den anfangs täglich, später in größeren Abständen vorgenommenen Messungen zusammengezogen ist.

Bei 32,5° C fand also überhaupt kein Wachstum mehr statt, bei 28,5° war es sehr gering, der Gesamtzuwachs in 33 Tagen betrug nur 13 mm, später war kein meßbarer Zuwachs innerhalb der nächsten 2 Wochen mehr zu er-

Tabelle 8.
Mycelzuwachs bei verschiedener Temperatur.

Täglicher Zuwachs in den	Zimmer- temperatur	22°	26,5°	28,5°	32,5°
ersten 3 Tagen	0,83 mm	0,85 mm	0,4 mm	0,3 mm	0
nächsten 9 Tagen	0,66 mm	0,5 mm	0,3 mm	0,2 mm	0
nächsten 21 Tagen	0,55 mm	?	?	0,1 mm	0

kennen. Bei 26,5° C war das Wachstum etwas besser, es erreichte bei 22° C sein Optimum, das von dem Zuwachs bei Zimmertemperatur nicht sehr verschieden war.

Wir sehen überall, auch bei günstigen Temperaturbedingungen, eine allmähliche Verlangsamung des Wachstums. Das ist wohl in Zusammenhang zu bringen mit der allmählichen Austrocknung des Substrates, der Abnahme der Nahrung und der Ansammlung wachstumshemmender Stoffwechselprodukte (Küster II, Lutz, Harder II).

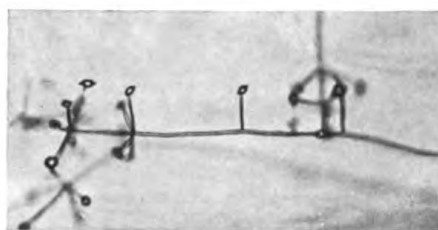
Einen Unterschied im Wachstum des Mycels und der Sporenkeimung beobachtete auch Hilbrig, der fand, daß bei *Penicillium* das Wachstum eine gewisse Zeit auch noch bei Temperaturen stattfand, die auf die Dauer nicht mehr ohne Vernichtung des Lebens ertragen wurden.

Kiel, Botanisches Institut, März 1914.

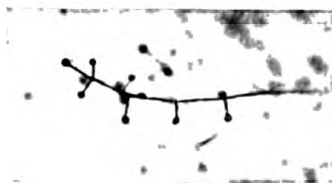
Literaturverzeichnis.

- Behrens, J., Beeinflussung der Zuwachsbewegung und der Gestalt durch physikalische Kräfte. (Lafar, Handb. d. techn. Mykol. 2. Aufl. Jena 1904—1907. Bd. 1. Kap. 16.)
- Beijerinck, M. W. u. van Delden, A., Über eine farblose Bakterie, deren Kohlenstoffnahrung aus der atmosphärischen Luft herrührt. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 10. 1903. p. 33.)
- Benecke, W., I. Allgemeine Ernährungsphysiologie. (Lafar, Handb. d. techn. Mykol. 2. Aufl. Jena 1904—1907. Bd. 1. Kap. 13.)
- , II. Spezielle Ernährungsphysiologie. (Lafar, Handb. d. techn. Mykol. 2. Aufl. Jena 1904—1907. Bd. 1. Kap. 14.)
- , III. Die zur Ernährung der Schimmelpilze notwendigen Metalle. (Jahrb. f. wiss. Botan. Bd. 28. 1895. p. 487.)
- Bessey, E. A., Über die Bedingungen der Farbstoffbildung bei *Fusarium*. (Flora. Bd. 93. 1904. p. 301.)
- Bokorny, Th., I. Beobachtungen über Pilze, welche Methylalkohol als C-Quelle verwenden können. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 29. 1910. p. 176.)
- , II. Über die Einwirkung von Methylalkohol und anderer Alkohole auf grüne Pflanzen und Mikroorganismen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 30. 1911. p. 53.)
- Brefeld, O., I. Botanische Untersuchungen über Schimmelpilze. I.—IV. Leipzig 1857—1881; Untersuchungen aus dem Gesamtgebiet der Mykologie VII—XIV. 1888—1895.
- , II. Über Alkoholgärung. (Landw. Jahrb. Bd. 3. 1874. p. 65.)
- , III. Method. zur Untersuchung der Pilze. (Landw. Jahrb. Bd. 4. 1875. p. 167.)
- Bruhne, K., *Homodendron Hordei*. Ein Beitrag zur Kenntnis der Gerstenkrankheiten. (Zopfs Beitr. z. Phys. u. Morph. nied. Organism. H. 4. 1894.)
- Buchanan, R. F., Morphological of the genus *Cephalosporium*. (Mycologia. Vol. 3. 1911. p. 170.)
- Büsgen, M., Über einige Eigenschaften der Keimlinge parasitärer Pilze. (Bot. Ztg. Bd. 51. 1893. p. 53.)
- Cool, Catharina, Beiträge zur Kenntnis der Sporenkeimung und Reinkultur der höheren Pilze. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 35. 1912. p. 481.)
- Coupin, H., Sur l'assimilation des alcools et des aldéhydes par le *Sterigmato-cystis nigra*. (Compt. rend. de l'Acad. de Paris. T. 138. 1904. p. 389.)
- Diakonow, N. W., Organische Substanz als Nährsubstanz. (Ber. d. Deutschen Botan. Ges. Bd. 5. 1885. p. 380.)

- Duclaux, M. E., Sur la nutrition intracellulaire. (Ann. Inst. Pasteur. T. 3. 1889. p. 111.)
- Elfving, T., Studien über die Einwirkung des Lichtes auf die Pilze. [Diss.] Helsingfors 1890.
- Eriksson, J., Über die Förderung der Pilzsporenkeimung durch Kälte. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 1. 1895. p. 557.)
- Errera, L., Die große Wachstumsperiode bei den Fruchträgern von *Phycomyces*. (Bot. Ztg. 1884. p. 497.)
- Harder, R., I. Beiträge zur Kenntnis von *Xylaria Hypoxylon*. (Naturw. Zeitschr. f. Land- u. Forstwirtschaft. Bd. 7. 1909. p. 449.)
- , II. Über das Verhalten von *Basidiomyceten* und *Ascomyceten* in Mischkultur. (Naturw. Zeitschr. f. Land- u. Forstwirtschaft. Bd. 9. 1911.)
- Hilbrig, H., Über den Einfluß supramaximaler Temperatur auf das Wachstum der Pflanzen. [Diss.] Leipzig 1900.
- Klebs, Zur Physiologie der Fortpflanzung einiger Pilze. II. (Jahrb. f. wiss. Botan. Bd. 33. 1899. p. 513.)
- Küster, E., I. Anleitung zur Kultur der Mikroorganismen. 2. Aufl. Leipzig und Berlin 1913.
- , II. Über chemische Beeinflussung der Organismen durcheinander. Leipzig 1909.
- Lindau, G., Fungi imperfecti. (Rabenhorsts Kryptogamenflora. 2. Aufl. Abt. VIII. Leipzig 1907. p. 100.)
- Loew, E., Zur Entwicklungsgeschichte von *Penicillium*. (Jahrb. f. wiss. Botan. Bd. 7. 1869. p. 474.)
- Lutz, O., Über den Einfluß gebrauchter Nährlösungen auf Keimung und Entwicklung einiger Schimmelpilze. (Ann. mycologici. Vol. 7. 1909. p. 91.)
- Macfadyen u. Rowland (Proc. Roy. Soc. London. Vol. 66. 1900, zitiert nach Behrens.)
- Maurizio, A., Studien über Saprolegnien. (Flora. Bd. 87. 1896. p. 16.)
- Marc Medisch, Beiträge zur Physiologie von *Hypocrea rufa*. (Jahrb. f. wiss. Botan. Bd. 48. 1910. p. 591.)
- Nägeli, C. v., I. Ernährung der niederen Pilze durch Kohlenstoff- und Stickstoffverbindungen. (Sitzber. d. bayer. Akad. d. Wiss. v. 5. Juli 1879.)
- , II. Untersuchungen über niedere Pilze. München und Leipzig 1882.
- Neger, F. W., Über Förderung der Keimung von Pilzsporen durch Exhalationen von Pflanzenteilen. (Naturw. Wochenschr. f. Land- u. Forstwirtschaft. Bd. 2. 1904. p. 484.)
- Nikitinsky, J., Über die Beeinflussung der Entwicklung einiger Schimmelpilze durch ihre Stoffwechselprodukte. (Jahrb. f. wiss. Botan. Bd. 40. 1904. p. 1.)
- Nypel, Bull. Soc. Roy. Bot. Belg. T. 36. 1898. p. 226, zitiert nach Lindau.
- Pfeffer, W., Pflanzenphysiologie. 2. Aufl. Leipzig 1897—1904.
- Raciborski, M., Über den Einfluß äußerer Bedingungen auf die Wachstumsweise des *Basidiobolus ranarum*. (Flora. Bd. 82. 1896. p. 107.)
- Reinhardt, M. O., Das Wachstum der Pilzhyphe. (Jahrb. f. wiss. Botan. Bd. 23. 1892. p. 489.)
- Reinke, J., Studien über das Protoplasma. 2. Folge. (Unters. a. d. bot. Labor. Göttingen. H. 3. 1883. p. 11.)
- Rumbold, Caroline, Beiträge zur Kenntnis der Biologie der holzerstörenden Pilze. (Zeitschr. f. Land- u. Forstwirtschaft. Bd. 6. 1908. p. 81.)
- Schimon, O., Beiträge zur Kenntnis rotgefärbter niederer Pilze. [Diss.] München 1911.
- Stoppel, Rose, *Eremascus fertilis* nov. spec. (Flora. Bd. 27. 1907. p. 332.)
- Stutzer, A., Über Beziehungen zwischen der chemischen Konstitution gewisser organischer Verbindungen und ihrer physiologischen Bedeutung für die Pflanzen. (Landw. Versuchsstat. Bd. 21. 1878. p. 116.)
- Ternetz, Charlotte, Protoplasmaabewegung und Fruchtkörperbildung bei *Ascophanus carneus*. (Jahrb. f. wiss. Botan. Bd. 35. 1900. p. 273.)
- Thiele, Die Temperaturgrenzen der Schimmelpilze. [Diss.] Leipzig 1896.
- Wehmer, C., I. Entstehung und physiologische Bedeutung der Oxalsäure im Stoffwechsel einiger Pilze. (Bot. Ztg. Bd. 49. 1891. p. 232.)
- , II. Beiträge zur Kenntnis einheimischer Pilze. II. Jena 1895.
- , III. Kleinere mykologische Mitteilungen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 3. 1897. p. 107.)
- , IV. Über Zersetzung freier Milchsäure durch Pilze. (Ber. d. Deutschen Bot. Ges. Bd. 21. 1903. p. 67.)



1



2



3



4



5



7



6a



6b



6c

Verlag von **Gustav Fischer** in Jena.

W e n t, F. C., Über den Einfluß der Nahrung auf die Enzymbildung durch *Monilia sitophila*. (Jahrb. f. wiss. Botan. Bd. 36. 1901. p. 611.)

W i n o g r a d s k y, S., Die Nitrifikation. (L a f a r, Techn. Mykol. 2. Aufl. 1904—1906. Bd. 3. Kap. 5.)

Tafelerklärung.

Fig. 1. Teil einer Lufthyphye mit Konidienträgern (Vergr. 250).

Fig. 2. Konidientragendes Ende einer Lufthyphye (Vergr. 100).

Fig. 3. Große zugespitzte und kleine ovale Sporen (Vergr. 1000).

Fig. 4. Wirtelförmig in Vierzahl angeordnete Konidienträger. Der nach oben gerichtete Träger hat seine erste Spore abgeschnürt. Sie liegt frei von Schleim quer über dem Träger. Die übrigen Konidienträger haben schon Schleim gebildet (Vergr. 400).

Fig. 5. Beginn der Schleimbildung. Wenig Schleim befindet sich an der Vorderseite der Spore (Vergr. 400).

Fig. 6. Die Spore ist von einem kleinen Schleimkügelchen, aus dem ihre Enden herausragen, umgeben. In dem nach rechts gerichteten Konidienträger ist keine große Spore vorhanden, so daß der Träger mit einem runden Schleimköpfchen endigt. Die Figuren a bis c wurden in Abständen von je 5 Minuten photographiert. Man sieht deutlich eine Drehung der Querspore im Sinne des Uhrzeigers (Vergr. 400).

Fig. 7. Die Schleimkugel ist so groß geworden, daß die Sporen völlig verdeckt werden. Die endgültige Größe ist damit jedoch noch nicht erreicht (Vergr. 400).

Alle Figuren sind Mikrophotogramme nach einer lebenden Kultur auf Zucker-Agar. In Fig. 3 sind die Umrisse der Sporen nachgezogen, die anderen Figuren sind nicht retouchiert.

Nachdruck verboten.

Zur Frage der systematischen Stellung der sog. Ambrosiapilze.

Von Prof. Dr. F. W. N e g e r.

Ein von R e h verfaßtes Referat über *Beauverie*, l'Ambrosia der *Tomicus* (*Xyleborus*) *dispar* (1910) in der Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten (1914), welches mir kürzlich zu Gesicht kam, gibt mir Veranlassung, mich noch einmal zu der Frage der systematischen Stellung der Ambrosiapilze zu äußern. Die genannte Mitteilung *Beauveries* in den *Comptes rendus* ist der Vorläufer einer längeren Abhandlung des gleichen Autors betitelt: „*Les Champignons dites Ambrosia*“ in *Annales des sciences naturelles. Sér. IX. Botanique*. p. 31—73 mit 5 Tafeln, in welcher *Beauverie* die ganze Erscheinung der Symbiose von holzbrütenden Borkenkäfern, *Asphondylia*-Larven usw., mit Pilzen im Zusammenhang behandelt. *Beauverie* hat der Frage nach der Natur (bzw. systematischen Stellung) der Ambrosiapilze der Borkenkäfer besondere Studien gewidmet und kommt in den beiden genannten Abhandlungen zu folgendem Resultat: Es finden sich in den Galerien des *Tomicus dispar* folgende Pilze: Außer den, die charakteristische Ambrosia bildenden, Pilzhyphe eine Hefe bildende *Dematium*-Art, sowie ferner rundliche Cysten und endlich Konzeptakeln (Pykniden), die angeblich einen besonderen Entwicklungszustand des Hefe erzeugenden Pilzes darstellen. *Beauverie* erinnert dann daran, daß ich aus den Ambrosiagallen (durch *Asphondylia*-Arten verursacht) auf *Coronilla emerus* und *Sarothamnus scoparius* Pykniden erzogen habe, die sich als zu *Marcophoma* gehörig erwiesen, und den von ihm beobachteten Konzeptakeln sehr ähnlich sehen. Es schließt hieraus, daß auch der Ambrosiapilz des *Tomicus dispar* eine *Macro-*
phoma sei, deren Pykniden — infolge der besonderen, durch die Symbiose gegebenen Lebensbedingungen — in der Entwicklung auf halbem Wege stehen geblieben seien.

Gegen diese Unterstellung möchte ich einige Bedenken geltend machen, die sich teils auf früher veröffentlichte Tatsachen, teils auf neuere Beobachtungen gründen.

Was zunächst die Ambrosiagallen und den im Innern derselben befindlichen Pilz anlangt, so habe ich meinen früheren Mitteilungen (insbesondere derjenigen vom Jahre 1910) hinzuzufügen, daß der Pilz der *Verbascum*- und *Scrophularia canina*-Galle zweifellos auch eine *Macrophoma* und höchstwahrscheinlich identisch ist mit dem Pilz der *Emerus*- und *Sarothamnus*-Galle. Ich habe aus Material, welches ich wiederholt in Bozen und Umgebung sammelte, stets zahlreiche reine Kulturen erhalten, die sich in nichts von den aus *Emerus*- und *Sarothamnus*-Gallen erhaltenen Reinkulturen unterscheiden. Besonders möchte ich betonen, daß die Pilze aus all diesen Gallen in der Reinkultur genau den gleichen Farbenwechsel durchmachen, wie wir ihn im Innern der Galle beobachten, d. h. das Mycel ist zuerst rein weiß (Ambrosiastadium), dann geht es ins Blaugraue über, um schließlich braunschwarze Färbung anzunehmen. In den meisten Fällen kommt es schließlich zur Bildung von Pykniden, die bald steril bleiben, bald aber auch Sporen in Ranken austreten lassen.

Es kann somit als sicher gelten, das der Pilz folgender Ambrosiagallen eine *Macrophoma* ist: Galle auf *Coronilla emerus*, auf *Sarothamnus scoparius* (und zwar sowohl Knospen- wie Fruchtgalle), Galle auf *Verbascum*-Arten und *Scrophularia canina* (diese letzteren nur in Südeuropa vorkommend¹⁾).

Ob alle diese Pilze bzw. die zugehörigen Gallenerreger miteinander identisch sind, wie es — soweit die Pilze in Betracht kommen — nach den Reinkulturen geschlossen werden kann, wage ich vorerst nicht mit Sicherheit zu entscheiden. Doch hoffe ich, in einigen Jahren eine bestimmte Antwort darauf zu geben. Es ist mir nämlich gelungen, im hiesigen botanischen Garten die *Sarothamnus*-Galle einzubürgern. Im vergangenen Jahr trat sie allerdings erst spärlich auf. Sowie sie sich etwas stärker vermehrt hat, ist zu hoffen, daß daneben gepflanzte *Coronilla Emerus*, *Verbascum*-Arten sowie (die allerdings schlecht hier gedeihende) *Scrophularia canina* von den betreffenden Gallenerregern gleichfalls angenommen werden, sofern ein solches Übergehen von einer Wirtspflanze auf die andere überhaupt möglich ist.

Schneider-Orelli (1913) meint, daß die spezifische Natur des Ambrosiagallenpilzes noch nicht als sicher ermittelt gelten könne, solange es nicht gelang, die eigentümliche — eben als Ambrosia bezeichnete Wachstumsform des Pilzes, bestehend in *Monilia*-Sporen ähnlichen Zellreihen in Reinkulturen zu erzielen. Demgegenüber ist einzuwenden, daß diese Wachstumsform höchstwahrscheinlich nur ein Produkt der in jungen, sehr turgeszenten Gallen herrschenden besonderen Wachstumsbedingungen ist, die in Reinkultur sehr schwer nachzuahmen sein werden. Sowie das Gallengewebe weniger turgeszent ist, verlieren auch die Ambrosiapilzzellen ihre zarte, plasmareiche Beschaffenheit und nehmen gleichzeitig die bekannte blaugraue Färbung an.

¹⁾ Über die Natur des Ambrosiapilzes von *Capparis spinosa* (in Sizilien häufig), sowie die neuentdeckten Gallen auf *Chaerophyllum temulum* und *Caucalis daucoides* ist meines Wissens noch nichts Näheres bekannt. Ich zweifle nicht, daß es unter Berücksichtigung des von mir (1910) angegebenen Verfahrens möglich sein wird, die betreffenden Pilze in Kultur zu bringen.

Über die Ambrosiapilze des *Tomicus* (*Xyleborus*) *dispar*, sowie des *T. (Xyloterus) lineatus*, habe ich dem, was ich früher ausführte (1909), nichts Neues hinzuzufügen.

Ich komme nun zu den von *Beauverie* (l. c.) vermuteten Beziehungen zwischen den Pilzen der Ambrosiakäfer einerseits und der Ambrosiagallen andererseits. Es liegt mir zunächst fern, in den Befund *Beauveries*, bzw. seine Beobachtung, daß in den Galerien des *Tomicus dispar* neben den eigentlichen Ambrosiarasen Pykniden (Konzeptakeln), sowie Cysten vorkämen, irgendeinen Zweifel zu setzen. Was zunächst die Cysten anlangt, die *Beauverie* auf Tafel V, Fig. 5 seiner ausführlichen Arbeit (1911) so schön und klar abbildet, so habe ich diese letzteren gleichfalls beobachtet. Ich glaubte (1911), sie als jene Ambrosiazellen ansprechen zu müssen, welche — nach *Schneider-Orelli* (1911) — vom Mutterkäfer ausgestoßen werden, und aus welchen der neue Ambrosiapilzrasen hervorgeht. Damit stimmt gut überein, daß *Beauverie* diese Zellen (Cysten) als zu Mycel ausgekeimend darstellt. Es dürfte, nachdem sowohl *Beauverie* wie *Schneider-Orelli* und ich diese Cysten-ähnlichen Zellen regelmäßig beobachtet haben, kein Zweifel darüber bestehen, daß dieselben einen integrierenden Teil des Ambrosiapilzes — wahrscheinlich seinen Keim — darstellen.

Anders ist es mit den Pykniden (*Beauveries* Konzeptakeln).

Ich selbst sah solche niemals (außer den häufig vorkommenden, zweifellos eine Verunreinigung darstellenden Pykniden von *Graphium*, bzw. *Ceratostomella*), auch *Schneider-Orelli* scheint die von *Beauverie* beobachteten Konzeptakeln nie gefunden zu haben.

Daß aber diese Konzeptakeln, wie *Beauverie* vermutet, eine Fruchtform des eigentlichen Ambrosiapilzes seien, und daß der Ambrosiapilz des *Tomicus dispar* gleichfalls eine *Macrophoma*, also mehr oder weniger identisch sei mit dem Ambrosiapilz der *Asphondylia*-Arten, dagegen sprechen eine Reihe von Tatsachen aufs entschiedenste:

a) Ich habe beide Pilze mehrere Jahre lang in Kultur gehabt, habe den Pilz des *Tomicus dispar* dazu gebracht, große Klumpen Ambrosia zu bilden, die vollkommen übereinstimmen mit der in den Larvenwiegen — also unter natürlichen Verhältnissen auftretenden Ambrosia (etwas schlechter neigt der Pilz des *X. lineatus* dazu, in Reinkulturen Ambrosia zu bilden). An der Identität meines Pilzes mit dem echten Ambrosiapilz kann also nicht gezweifelt werden. Gleichwohl beobachtete ich in keiner der unzähligen Reinkulturen des *Tomicus*-Pilzes, die ich unter den Händen hatte, auch nur ein einziges Mal eine Andeutung von Pykniden, während die Reinkulturen der *Asphondylia*-Ambrosiapilze (aus Ambrosiagallen) auf den verschiedensten Substraten mindestens sterile, sehr häufig sogar fertile Pykniden bildeten.

Es besteht deshalb keine Veranlassung, anzunehmen, daß der *Tomicus*-Ambrosiapilz eine *Macrophoma* sei.

b) Wie ich schon früher erwähnte (1909), fehlen alle Anhaltspunkte für eine Ermittlung der systematischen Stellung der *Tomicus*-Pilze, in dem diese Pilze die Fähigkeit, Sporen oder Fruchtformen zu bilden, verloren zu haben scheinen. Nach der Feststellung von *Schneider-Orelli* besteht ja auch keinerlei Bedürfnis hierfür, indem die Vermehrung durch Keimung alter — aus dem Verdauungskanal des Mutterkäfers entleerter — Ambrosiazellen erfolgt. Bei den *Asphondylia*-Arten liegen die Ver-

hältnisse ganz anders. Wenn wir auch die letzten Einzelheiten der Ei- und Sporenablage noch nicht kennen, so ist doch sicher, daß jenes embryonale Ambrosiamycel, welches sich stets in den jüngsten Entwicklungsstadien der Ambrosiagallen neben der eben aus dem Ei ausgeschlüpften Larve findet, aus einer farblosen „*Macrophoma*“-Spore hervorgegangen ist, und dies setzt voraus, daß Pykniden gebildet worden sind. Niemals sah ich in embryonalen Ambrosiagallen das Ambrosiamycel aus gebräunten Zellen hervorgehen. Diese Verhältnisse beweisen schon, daß wir es mit zwei fundamental verschiedenen Ökologismen zu tun haben. Es ist kaum denkbar, daß ein und derselbe Pilz diesen verschiedenen Ansprüchen gerecht wird.

c) Außer dem morphologischen ist auch das chemische Verhalten auf den in Anwendung gebrachten Substraten ein sehr verschiedenes. Wie ich früher (1909) ausführte, ist eine besondere Eigentümlichkeit der *Tomicus*-*Ambrosiapilze* (sowohl vom *T. dispar* wie von *T. lineatus*), daß sie auf kohlehydratreichen Substraten (Brot, Möhren, Kartoffeln, Dextrose-nährgelatine u. a.) Fruchtester von Ananas oder Erdbeeraroma bilden. Diese Fähigkeit geht den *Macrophoma*-Arten vollkommen ab. Allerdings besitzen Reinkulturen von *Macrophoma* auf Pflanzenteilen gleichfalls einen eigenartigen Geruch; derselbe ist aber grundverschieden, er erinnert an fermentierten Tabak, z. B. an die österreichische Regiezigarette „Sport“.

d) *Beauverie* fand in den Larvenwiegen von *Tomicus dispar* auch ein *Dematium*, welches Hefezellen abschnürt, und neigt dazu, dieses *Dematium* als ein Entwicklungsglied des *Ambrosiapilzes* anzusehen. Demgegenüber möchte ich betonen, daß Hefezellen auch nach meinen Beobachtungen in den Ambrosiarasen der Holzborkenkäfer eine sehr häufige Erscheinung sind, daß aber in Reinkultur des Ambrosiapilzes hefeartige Bildungen nie auftraten — nicht einmal in zuckerreichen Nährlösungen, in welchen auch *Dematium*-artige Pilze sonst sehr zur Abschnürung von hefeähnlichen Zellen neigen. Ich habe daher die Überzeugung gewonnen, daß die hefeartigen Zellen (sowie vermutlich auch *Beauveries Dematium*) keine Entwicklungsform, sondern eine Verunreinigung¹⁾ des Ambrosiapilzes darstellen.

e) Die oben erwähnte Eigenschaft, in Nährlösungen esterartige Verbindungen zu bilden, teilen nur wenige Pilze mit den Ambrosiapilzen. Es sind hauptsächlich *Endomyces*-Arten, welchen diese Fähigkeit zukommt. Dies war für mich die Veranlassung anzunehmen, daß die Ambrosiapilze der Holzborkenkäfer sich etwa von *Endomyces*-Arten ableiteten (um so mehr, da Schleimflüsse von Bäumen das häufigste Substrat von *Endomyces*-arten sind). Leider gelang es mir nie, die für *Endomyces* charakteristischen Asci mit den hutförmigen Sporen nachzuweisen. Dagegen finde ich in Tafel III, Fig. 1 der *Beauveries*chen Arbeit eine Cyste abgebildet, welche recht wohl als Ascus eines *Endomyces* gedeutet werden könnte. Hier hätten wohl weitere Untersuchungen einzusetzen, um die systematische Natur des *Tomicus*-Pilzes einwandfrei festzustellen — etwa wenn es gelänge, solche Cysten zu isolieren, in Reinkulturen zu züchten und aus dem erhaltenen Mycel Ambrosia heranzuziehen.

¹⁾ Ähnlich faßt offenbar *Schneider-Orelli* die Sache auf, denn er führt (1913) aus, daß er neben Ambrosiazellen im Darm schwärmender Muttertiere *Dematium*-Zellen gefunden und diese auch zu Mycel habe auswachsen sehen (l. c. Taf. III, Fig. 24).

Ich schließe meine Betrachtungen mit dem Satz: „Der Ambrosiapilz der meisten Ambrosiagallen ist eine *Macrophoma*; der Ambrosiapilz der Holzborkenkäfer ist sicher keine *Macrophoma*, sondern vermutlich ein Pilz aus der Verwandtschaft von *Endomyces*, wofür aber noch weitere Beweise beizubringen sind. Die Pykniden in den Larvenwiegen des *Tomicus dispar*, ebenso wie die Hefezellen sind allem Anschein nach Verunreinigungen der ursprünglichen „Ambrosiareinkulturen“.

Literatur.

1. Beauveric, L'Ambrosia du *Tomicus dispar*. (Compt. rend. Jg. 1910. T. II.)
2. —, Les champignons dits Ambrosia. (Ann. sc. nat. Séc. IX. Botan. T. XI. 1910. p. 32—73 m. 10 Textfig. u. 5 Taf.)
3. Dörries, Über eine neue Galle an *Caucalis daucoides*. (Botan. Zeitung. 1910.)
4. Neger, Ambrosiapilze. (Bericht d. Deutsch. Bot. Ges. 1908, 1909 u. 1910.)
5. —, Zur Übertragung des Ambrosiapilzes von *Xyleborus dispar*. (Naturw. Zeitschr. f. Forst- u. Landw. Bd. 9. 1911. p. 223—225.)
6. Schneider-Orelli, Die Übertragung und Keimung des Ambrosiapilzes von *Xyleborus dispar*. (Naturw. Ztschr. f. Forst- u. Landw. Bd. 9. 1911. p. 186—192.)
7. —, Untersuchungen über den pilzzüchtenden Obstbaumborkenkäfer *Xyleborus (Anisandrus) dispar* und seinen Nährpilz. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 38. 1913.)

Nachdruck verboten.

Über *Ophiobolus herpotrichus* Fries, den „Weizenhalmtöter“, in seiner Nebenfruchtform.

Von Dr. Ernst Voges.

Mit 9 Figuren.

Einleitendes.

Als Nebenfruchtform unseres Ascomyceten ward von Saccardo¹⁾ und L. Hiltner²⁾ der Pyknidenpilz *Hendersonia herpotricha* Sacc. angegeben, der vergesellschaftet mit dem von F. Frank als Weizenhalmtöter bezeichneten Schlauchpilz am Halmgrunde der Weizenpflanze vorkommt. Gegenüber dieser Angabe, die anscheinend nur auf den trügerischen Grund des Zusammenlebens der beiden Pilze am gleichen Orte des Nährsubstrats hin gemacht war, hatte ich³⁾ infolge des Züchtungsergebnisses aus den Askosporen von *Ophiobolus herpotrichus* den Hyphomyceten-Pilz *Fusarium rubiginosum* App. et Wollw. für dessen Konidienform als höchstwahrscheinlich angesprochen, vorbehaltlich weiterer Nachprüfungen, wobei ich die Bedenken äußerte, daß bisher nur *Fusarium*-Pilze als Nebenfruchtformen von *Nectriaceen* bekannt seien. Erneute, im Nachsommer 1913 angestellte Kulturen haben denn auch erwiesen, daß meine erste Annahme falsch war. Nicht ein *Fusarium*, sondern ein

¹⁾ Sylloge. Vol. 2. p. 77.

²⁾ Eine Voraussage. (Prakt. Bl. f. Pflanzenb. u. Pflanzenschutz. 1912. p. 39.)

³⁾ Über *Ophiobolus herpotrichus* Fries und die Fußkrankheit des Getreides. (Zeitschr. f. Gärungsphysiol. Bd. 3. 1913. p. 43.)

Acremonium ist die Nebenfruchtform von *Ophiobolus herpoticus* Fr.

Daß ich zu jener ersten irrigen Ansicht gelangte, das hängt mit der Schwierigkeit der Kultur des Schlauchpilzes zusammen. Schon Fr. Krüger¹⁾ berichtet über die ungünstigen Resultate, die er erhielt, wenn er vor Beginn des Keimungsaktes die Sporen in Nährlösung brachte. Die Keimung unterblieb dann in der Regel überhaupt, obwohl er die verschiedensten Nährmedien in ungleichen Konzentrationen und unter den verschiedensten Bedingungen verwandte. Nur wenigmal bildeten sich an den Enden des Keimschlauches, der noch nicht einmal die Länge der Sporen erreicht hatte, nach einigen Tagen kleine, sichelartig geformte Sporen, farblose Fortsätze, die Krüger als Appressorien ansprach, während Mangin²⁾, der die gleichen Gebilde erhielt, sie für Sporidien ausgab.

Ähnliche Gebilde, die uns weiter noch beschäftigen werden, traten auch in meinen Kulturen auf. Sie sind veranschaulicht in den meiner vorhin erwähnten Arbeit beigegebenen Figuren. Außer ihnen erschienen in dem künstlichen Nährsubstrat, zumal in älteren Kulturen als Verunreinigungen massenhafte sichelförmige Gebilde, die ich für Mikroorganismen hielt. Wie Krüger ferner angibt, so sah er jene sichelartigen Körper vereinzelt auch an Sporen, die auf Blättern lebender Weizenpflanzen in feuchter Luft gekeimt waren, sich aber nicht weiter veränderten.

Schon aus den vorstehenden Angaben erhellt, wie ungleichmäßig und schwer die *Ophiobolus*-Sporen auf künstlichen Nährmedien keimen und wie spärlich die Mycelbildung ausfällt. Sodann glückt es nicht allemal, eine reine Sporenaussaat zu gewinnen. Steht reichliches Versuchsmaterial zur Verfügung, so findet man Perithezien, die ihre Askosporen ausschleudern. Diese lassen sich alsdann auf dem Objektträger auffangen, und man erhält eine reine Aussaat. Ist das aber nicht der Fall, so wird die Kultur meist unrein. Selbst wenn die im Wassertropfen ausgetretenen Askosporen auf fremde Beimengungen auch mikroskopisch sorgfältig geprüft sind, so verbleiben doch in der Regel kleine Mycelfetzen unter der Aussaat. Und da die *Ophiobolus*-Perithezien umwuchert sind von den Hyphen der verschiedensten mit ihnen zusammenlebenden Pilze, besonders *Fusarium*-Formen, so gelangen mit dem *Ophiobolus*-Sporen und Mycelfetzen auch Hyphenstückchen anderer Pilze unter die Aussaat, die sich eben von den ersteren nicht unterscheiden lassen.

Zu der Kultur ist eine reiche Sporenaussaat zu verwenden, der nur ein geringer Prozentsatz keimt und ein fruktifizierendes Mycel treibt. Und deshalb wandte ich zunächst das wohl zumeist beliebte Aussaatverfahren mit den in sterilisiertem Wasser entleerten Sporen an. So kam es denn, daß ich in meinen ersten Kulturen auf Pflaumengelatine neben ungekeimten und in Auflösung übergehenden Sporen, sowie in der Entwicklung steckengebliebenen und mißgebildeten Keimlingen ein feines haarlockiges Mycel erhielt, das in einem dichten Hyphengewirr an seitenständigen, stab- bis flaschenförmigen langen Konidienträgern terminal kleine, längliche und einzellige Einzelkonidien hervorbrachte, die ich für einzellige Mikro- oder Hungerkonidien von *Fusarium* hielt, da neben ihnen vereinzelt auch sichelförmige, mehrseptige *Fusarium*-Konidien erschienen. Ein Mycel, das nach der Übertragung

¹⁾ Untersuchungen über die Fußkrankheit des Getreides. (Arb. a. d. Kaiserl. Biolog. Anst. f. Land- u. Forstw. Bd. 6. 1908. p. 330.)

²⁾ Nach einem Zitat bei Krüger, a. a. O. p. 330.

von dem künstlichen Nährsubstrat auf das natürliche, auf gekochte Weizenpflänzchen, dann zur üppigen Entwicklung gelangte und nach Fruktifikation das *Fusarium rubiginosum* App. et Wollw. vorstellte, woraus vornehmlich der dunkle Mycelbelag des unteren Internodiums der fußkranken Weizenpflanzen besteht. Außer dieser *Fusarium*-Form erschien aber auch nach der Übertragung des auf Pflaumengelatine aus den ausgesäten *Ophiobolus*-Sporen hervorgegangenen Mycels auf die gekochten, in Ziegelgrus gezogenen Weizenpflänzchen ein zartes, feines Mycel mit den vorhin als Fusarienmikrokonidiengedeuteten einzelligen, länglichen oder ellipsoidischen, zuweilen schwach gekrümmten Sporen. Erneute diesjährige Kulturen mit einem auf dem Objektträger aufgefangenen, ejakulierten, reinen *Ophiobolus*-Sporenmaterial ergaben nun, daß in jenem Mycel und seinen Sporen nicht etwa ein verkümmertes Mycel mit „Hungerkonidien“ oder Mikrokonidien einer *Fusarium*-Form zu erblicken war, sondern daß in den ersten Kulturen zwei verschiedene Pilze auftraten, wovon der eine das *Fusarium rubiginosum* App. et Wollw. und der anderen Pilze das *Acremonium alternatum* Link war. Und dieses ist die Konidienform von *Ophiobolus herpotrichus* Fries.

Die Keimung der *Ophiobolus*-Sporen.

Die *Ophiobolus*-Spore ist im Ascus lang fadenförmig, leicht geschlängelt oder schwach gebogen, nach unten etwas verjüngt zulaufend, an beiden Enden abgerundet, vielzellig und mit zahlreichen großen Öltröpfchen versehen in perlschnurähnlicher Anordnung. Ein Zusatz von Jodlösung ergab weiter keine Färbung. Die Zellmembran ward indes von Jodjodkalium angegriffen und erhielt ein zerfressenes Ansehen, während die Kügelchen austraten. Nach dem Zusatz kam ferner die Septierung deutlicher zu Gesicht. Ebenso hob sich wie auch nach einer Methylenblaufärbung der Zellkern scharf ab, der vielfach der Zellmembran seitlich anlagerte oder den Querwänden, wo ebenfalls das Plasma körniger war.

Sowie die Askospore entleert ist, geht eine auffällige Veränderung mit ihr vor. Wenn sie nicht plasmolysiert, sich auflöst und zerfließt, was bei zahlreichen entleerten Sporen eben der Fall ist, dann erfolgt anders eine starke Quellung und Streckung, wobei sich zugleich die Spore bogenförmig biegt. Diese Biegung geht oft in der Mitte der Spore in eine Knickung über. Wie die Gestalt der Spore, so verändert sich auch ihr Inhalt. Die Tröpfchen nehmen größere Dimensionen an, so daß sie gegen die längsseitigen Zellwände drücken und infolge dieses Druckes aus der Kugelgestalt in eine elliptische übergehen. In diesem Ausbildungsstadium verharren zum Teil die Sporen, und zwar sowohl im Wasser, wie auf dem künstlichen und natürlichen Substrate und auch in der Fruchtkapsel. So enthielten die meisten der im Herbst 1913 untersuchten Perithechien solche Sporen im Quellungsstadium, ohne daß sie hinterher keimten. Im

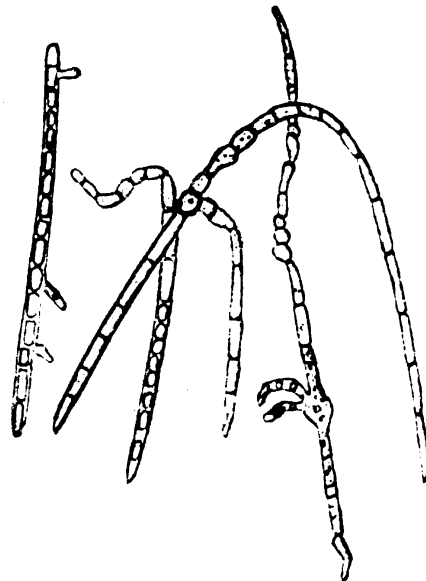


Fig. 1. Keimlinge von *Ophiobolus herpotrichus* Fr. Vergr. 500.

Wassertropfen zerdrückt, zeigte sich, daß die Asci aufgelöst waren. Die Sporen blieben indes zu einem Bündel vereint, zusammengehalten von einer schleimigen Masse. Die Paraphysen waren jedoch vollständig aufgelöst und selbst in Spuren nicht mehr nachweisbar. Vereinzelt kamen sodann Asci vor, deren oberer Teil zerflossen, während ihr unterer Teil, das Fußende, schraubig ausgezogen oder schnabelförmig gebogen und stark aufgebläht war. Auch sah man Sporen, die im Ascus schon kurze Keimschläuche getrieben hatten. Die entleerte und gequollene Askospore ist 66—74 μ lang; ihre größte Breite, die in den mittleren Teil der Spore fällt, beträgt 4 μ , ihre geringste an dem verjüngt zulaufenden Basalende 2 μ . Die Septenzahl nach Metylenblaufärbung fünf.



Fig. 2. Sporenkeimlinge von *Ophiobolus herpotrichus* Fr. Vergr. 500. a) Keimling im Wassertropfen mit einem Hungerfruchtstand m; b) und c) Keimlinge auf Pflaumengelatine.

Das Verhalten der *Ophiobolus*-Spore nach ihrer Entleerung aus der Fruchtkapsel ist somit ganz ungleichartig. Ein Teil zerfließt; ein anderer verbleibt in dem Quellungsstadium ohne zu keimen; ein dritter keimt nach vorausgegangener Quellung unter Mißbildungen, worauf die Entwicklung zum Stillstand kommt, indem die Sporenkeimlinge in eine Art Dauermycelform übergehen; eine vierte Askosporengruppe endlich treibt in normaler Weise Keimschläuche mit nachfolgender Mycelbildung. Das entstehende Mycel ist nun aber wiederum ungleichartig.

Die Keimung geht in der Weise vor sich, daß entweder aus der Endzelle und nur an dem einen Pole der Spore ein Keimschlauch tritt, der weiterhin

zum Mycel auswächst, oder an ihren beiden Polen treibt je die Endzelle unter einem fast rechten Winkel einen Keimschlauch. Oder es sendet die gequollene und in der Mitte geknickte *Ophiobolus*-Spore an dieser Stelle einen kräftigen Keimschlauch aus, zu dem sich weniger kräftige an den Polen gesellen können. Im Wassertropfen erfolgt schon nach 24 Stunden eine Keimung der Sporen, zumal am sauerstoffreichen Rande des Deckgläschens. (Fig. 2.) Unterhält man in einer feuchten *Petri*-Schale einige Tage die Wasserzufuhr, so treiben die Keimschläuche verzweigte Hyphen, die jedoch bei der unzureichenden Ernährung nur überaus feine zarte Fäden vorstellen. An den seitlichen Hyphensprossen dieser Keimlinge, sowie an der Spitze der Haupthyphye erscheinen eigentümliche Gebilde, die vielleicht als verkümmerte oder als Hungerfruchtstände anzusehen sind. Das Endstück solcher Hyphen ist flaschenförmig angeschwollen, und an der Spitze des Halses trägt es mehrere kugel- oder scheibenförmige Auftreibungen. (Fig. 2 m.) Von ihnen entspringen längliche oder bisquitförmige, konidienähnliche Körperchen sowie große, flaschenförmige, in ihrem Halsteil gedrehte Gebilde, die Sterigmen gleichen. Die Septierung der Hyphen tritt in größeren Zwischenräumen auf. Gewöhnlich sieht man eine Scheidewand in der Nähe der Seitensprossen der Hyphe.

Auf den künstlichen Nährmedien, wie Gelatine und Agar, mit Pflaumen- oder mit Birnsaft und auf dem natürlichen Substraten der gekochten Weizenpflänzchen, ging die Keimung der *Ophiobolus*-Sporen im wesentlichen ähnlich vor sich wie im Wasser. Nur verlief der Prozeß in kräftigerer und vielförmigerer Weise unter gestaltenreicheren Bildungen und energischerem Wachstum. Auf Pflaumengelatine war die Keimung am gestaltreichsten und kräftigsten. Ein Bild der Keimung, das häufig wiederkehrt, besteht darin, daß die Endzelle des einen Sporenpols kugel- oder birnförmig anschwillt ohne jedoch einen Keimschlauch zu bilden, den aber die Endzelle des anderen Sporenpols aussendet.

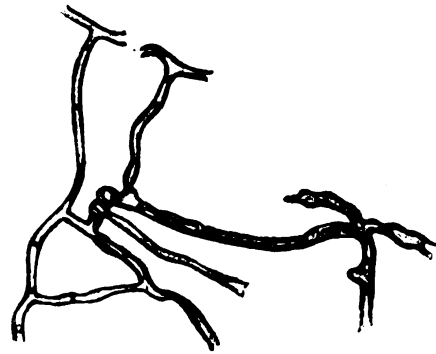


Fig. 3. Plectenchymatisches Dauermycel aus der Kultur von *Ophiobolus herpotrichus*. V. 500.

Zu welchen Mißbildungen es kommt, wenn die Sporen in der Entwicklung und dem Wachstum stecken bleiben, darüber habe ich schon früher berichtet¹⁾. Was solche pathologischen Sporenkeimlinge charakterisiert, das ist vor allem der starre Habitus, die Derbwandigkeit der Zellmembranen unter teilweiser Gelbfärbung, eine Art Dauermycel- oder Chlamydosporenbildung. (Fig. 1.) Und da kommen denn die mannigfaltigsten und sonderbarsten knorrigten Gestaltsbildungen vor, wie sie aus den beigegeführten Abbildungen ersehen werden mögen. (Fig. 1.) Die ursprüngliche Askospore erscheint vielfach sichelförmig, und der an dem einen Ende entstandene Keimschlauch, oft nicht viel länger als die Askospore, ist zu einer Dauerhyphye umgewandelt mit interkalaren chlamydosporengleichen, kugeligen Hyphengliedern neben zylindrischen. Und die knorrigten, kurzen Seitentriebe endigen mit länglichen bis elliptischen, konidienähnlichen Gebilden. Oder die gequollene, leicht gebogene Spore hat außer kurzen, starren Seitenästen große eiförmige, dicht nebeneinander sitzende Aussackungen getrieben, gekrönt mit elliptischen konidienähnlichen

¹⁾ a. a. O.

Körperchen. Diese gleichen den vorhin erwähnten kugeligen oder traubigen Hyphenaussackungen, wie sie an den im Wasser gekeimten *Ophiobolus*-Sporen auftraten.

So ungleich wie auf dem künstlichen Nährsubstrat die Sporenkeimung vor sich geht, indem unter starker Quellung und leichter Krümmung der Sporen diese an ihren Enden je einen, unter einem fast rechten Winkel sprießenden Keimschlauch aussenden, oder die Spore aus Zellen ihres mittleren Teils ein bis zwei Keimschläuche treibt, ebenso verschieden verläuft der Keimungsakt auf dem natürlichen Substrate. Im August hatte ich Blätter und Halme junger gekochter Weizenpflänzchen mit den in Wasser entleerten Askosporen von *Ophiobolus herpotrichus* beschickt, die schon nach zwei Tagen kräftige Keimschläuche getrieben hatten. (Fig. 7.) Allerdings war nur ein geringer Prozentsatz der aufgetragenen Sporen zur Keimung gekommen.

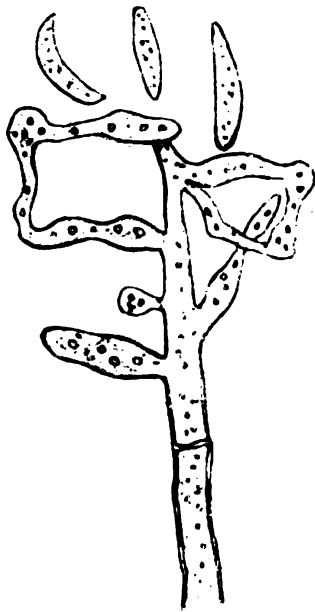


Fig. 4.

Fig. 4. Abnormaler Fruchtstand der Konidienform von *Ophiobolus herpotrichus* mit sichelförmigen Konidien aus der Kultur der *Ophiobolus*-Askosporen auf Birnsaftagar. Vergr. 700.

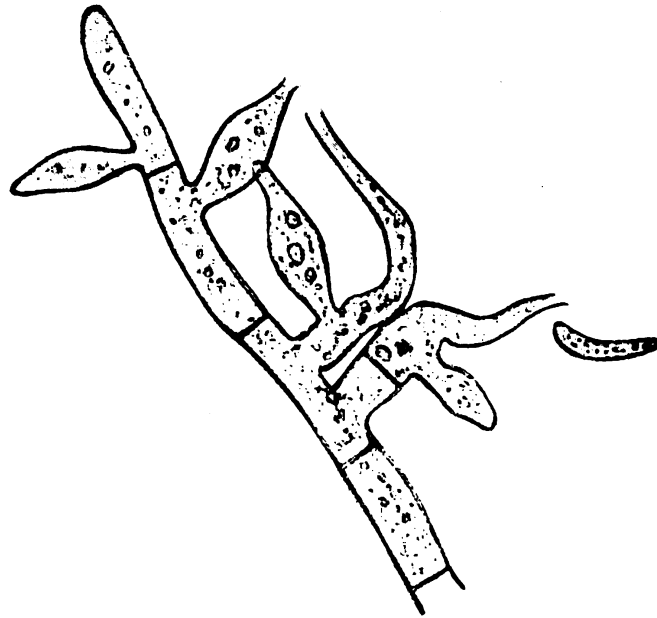


Fig. 5.

Fig. 5. Ein gleicher Fruchtstand aus der Kultur auf gekochten Weizenpflänzchen. Vergr. 700.

Die meisten gingen zugrunde. Auf den stark gekochten Weizenhalmstücken älterer Pflanzen sowie auf gekochten Kartoffelstückchen keimten vereinzelt die *Ophiobolus*-Sporen. Sie trieben jedoch keine Keimschläuche, welche in die Gewebe des Substrats eindringen. Der kieselhaltige Gewebekörper der älteren Weizenpflanzen setzte ihrem Eindringen einen unüberwindlichen Widerstand entgegen. Ebenso wenig scheinen den Keimlingen die gekochten Kartoffelstengel ein zusagendes Objekt der Besiedelung zu sein.

Die normale Sporenkeimung auf dem Blatte des gekochten Weizenpflänzchens verlief in dem einen hier zu beschreibenden Falle in der Weise, daß die auf der Epidermis liegende und zumal in ihrem mittleren Teile beträchtlich gequollene Spore an ihren beiden Enden je zu einem kurzen Keimschlauche auswuchs. An dem einen Sporende bog derselbe unter einem stumpfen Winkel ab, um nach kurzem Verlaufe kolbig zu enden. Gegen das andere Sporende

hin war die Spore verbreitert, und hier ging in gabeliger Teilung ein Keimschlauch aus, dessen einer kurzer Schenkel als unmittelbare Fortsetzung der ursprünglichen Spore mit einem hakig gekrümmten scheibenartigen Endstück abschloß, während der andere Schenkel im Winkel zu dem ersten abbog, um weiterweg auf der Blattoberfläche drei ungleich große scheibenförmige oder traubige Aussackungen zu treiben. (Fig. 7 m.) Die letzte dieser runden Anschwellungen schickte dann eine Infektionshyphye aus, die im Winkel zum Keimschlauche nach kurzem geraden Verlaufe in eine Epidermiszelle drang. Die traubigen Aussackungen, welche der Keimschlauch alsbald nach seinem Austritt aus der Sporenzelle bildet, kann man wohl für Appressorien ausgeben. Übrigens geht die Keimung, Hyphenbildung und Infektion zumeist ohne Appressorienbildung vonstatten.

Die Mycel- und Fruchtbildung auf dem künstlichen Substrate.

Es ist bezeichnend für die keimende *Ophiobolus*-Spore, daß sich ihre Form noch erhält, wenn schon eine verzweigte Mycelbildung erfolgt ist. Das Mycel selbst zeichnet sich durch seine Ungleichartigkeit aus, worauf schon hingewiesen

wurde. Es lassen sich nämlich zwei

Haupttypen unterscheiden.

Das Mycel des einen ist starr borstenartig,

derbwandig, schwach oder gar nicht verzweigt.

Dann wieder erschien in den Kulturen ein Mycel mit größtenteils kugeligen Hyphengliedern, oder streckenweise mit kugeligen u. streckenweise mit gestreckten Gliedern und kurzen Seitenästen (Fig. 6). Es ist das

ein Dauermycel mit chlamydosporenartigen Hyphengliedern. Am ausgeprägtesten trat diese Bildung auf Pflaumengelatine auf, wo, wie vorhin schon bemerkt, die Mycelbildung üppiger und gestaltreicher war als auf Agar. Ein Beweis, wie das Nährmedium das Pilzwachstum und die Organbildung formativ beeinflusst. Wie früher schon hervorgehoben, so würde man die verschiedenen Hyphen- und Mycelformen und Sporenkeimlinge nicht für zusammengehörig halten, wenn sich nicht ihre gleiche Herkunft aus den *Ophiobolus*-Sporen verfolgen ließe.

Zu dem ersteren Mycel, das aus starren, borstenförmigen und winkelig

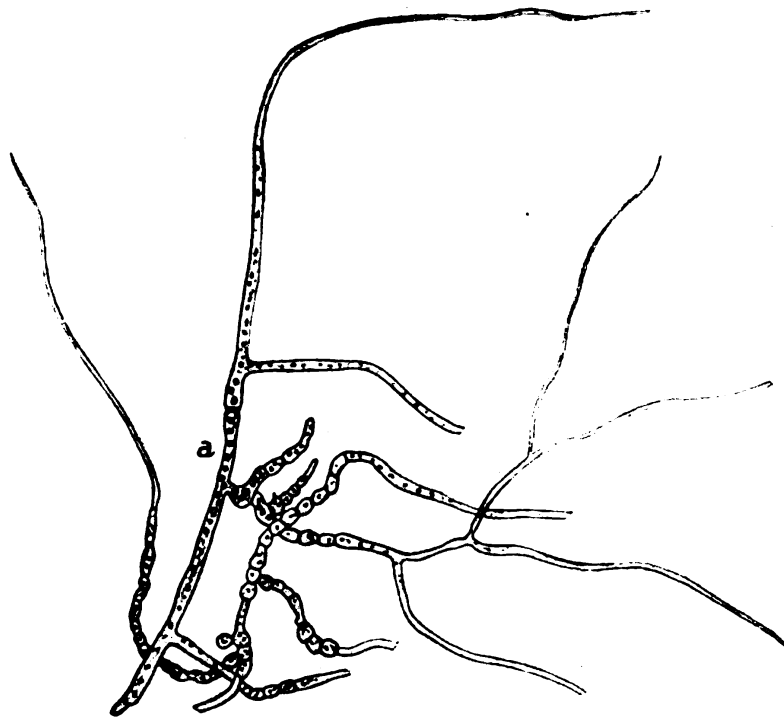


Fig. 6. Keimlinge von *Ophiobolus herpotrichus* mit chlamydosporenähnlichen Hyphengliedern. Vergr. 700.

und geknickt verlaufenden, nach einiger Zeit sich grüngelblich färbenden Hyphen mit schwach entwickelten, knorrigen Seitenästen besteht, oder auch überhaupt keine Seitenäste bildet, wodurch noch um so mehr die ganze Hyphe borstenartig erscheint, zu diesen Mycelbildungen sind sodann jene Hyphengebilde von *Ophiobolus*-Keimlingen zu rechnen, welche in der Entwicklung stecken blieben und in eine Art Dauermycel übergingen. Ihre aus den Keimschläuchen unmittelbar entstandenen kurzen, gedrungenen, derben und dickwandigen Hyphen sind von größerem Kaliber, als die borstenförmigen Hyphen. Jene haben einen Durchmesser von 2—3 μ , diese von 1—2 μ . Das Mycel der borstenförmigen Keimlinge gleicht den Perithecieborsten.

Das Mycel des zweiten Typus ist dahingegen überaus feinfädig und zart, mit zahlreichen, von der Haupthyphe geradlinig abgehenden Seitenästen. Es macht, um ein Bild zu gebrauchen, den Eindruck wie ein feines, gewelltes oder gekräuselteres Haar. Übergänge vermitteln die verschiedenen Mycelformen. So sehen wir, wie die perlschnurförmigen Hyphen mit den dicken kugeligen und tiefbraunen Gliedern, welche zu breiten, dem bloßen Auge schon erkennbaren Strängen (Fig. 3) oder zu sklerotienartigen Bildungen zusammentreten, wie diese perlschnurförmigen braunen Hyphen in ihren Endgliedern in blasse Hyphen mit langgestreckten Gliedern übergehen, die ein feinfädiges Mycel mit Konidien bilden, in den älteren Kulturen auf künstlichem Nährmedium.

Zunächst kam es da nur zu einer schwachen Mycel- und zur dürrtigen Fruchtbildung. Jenes erschien nicht, wie das sonst bei den meisten Pilzkulturen der Fall ist, an der Oberfläche als Luftmycel, sondern es blieb, von spärlichen Hyphensproßlingen abgesehen, submers in der Nährschicht. Die *Ophiobolus*-Keimlinge in Birnsaftagar hatten zumeist knorrig verästelte Hyphen getrieben oder borstenförmige, in Schleifen verschlungene, ohne oder nur mit wenigen Seitenästen. An diesen und häufig auch nur am Endstück der gewunden verlaufenden Hyphe befand sich der Fruchtstand (Fig. 4). Und zwar erschien dieser in Gestalt von querständigen oder seitenständigen, im letzteren Falle gewöhnlich dicht nebeneinander stehenden kegel- oder flaschenförmigen Konidienträgern mit endständigen länglichen Konidien. Die Konidienträger waren 8—12 μ lang und im oberen Teile von Hyphenbreite, 4 μ , während ihr bauchig verbreiteter mittlerer Teil über die Hyphenbreite hinausging. Die Konidien hatten eine Länge von 5—8 μ und eine Breite von 1—1½ μ . An diesen Fruchtständen fielen nun die sonderbarsten Gestaltsbildungen auf. (Fig. 4.) Vorhin wurden bereits die Mißbildungen der *Ophiobolus*-Sporenkeimlinge erwähnt, die besonders zahlreich und vielgestaltig auf Birnsaftagar vorkamen. Und auf diesem Substrat zeigten sich dann auch die absonderlichsten Konidienbildungen. Man kann sie wohl als das Produkt eines unzusagenden Nährsubstrats ansehen, das, zumal in den älteren Kulturen, durch eine Bakterienvegetation und durch Stoffwechselprodukte gewisse Veränderungen und Stoffumsetzungen erlitt, die gleichsam eine formative Einwirkung auf die Konidienbildung hatten. Auf solche Weise entstanden an den Konidienträgern, indem sich ihr Halsteil beträchtlich verlängerte und nicht selten eine rechtwinklige Knickung erfuhr, gewundene oder gedrehte, korkzieherförmige, sanduhrglasförmige Abschnitte mit länglichen oder sichelförmigen seitlichen Auswüchsen oder kugeligen Anschwellungen mit konidienähnlichen Endgliedern, Bildungen, die hinterher ab- und auseinander fielen und haufenweise in der Nähe ihrer Bildungsstätte lagen und, durchsetzt von Stäbchenbakterien, eine unentwirrbare Masse abgaben. Die länglichen, elliptischen oder sichelförmigen Körper, die sich darunter befanden, stimmten in

ihren Größenverhältnissen mit denen vorhin von den Konidien angegebenen ziemlich überein. Was ferner diesen am Endteil einer borstenförmigen, meist unverzweigten, aus dem *Ophiobolus*-Keimlinge hervorgegangenen Hyphe auftretenden Fruchtstand auszeichnet, das ist der beachtenswerte Umstand, daß die Wachstums- und Abschnürungsweise jener eigentümlichen Konidiengebilde in einer Ringform sich vollzieht, so daß es zu einer Scheinköpfchenbildung kommt (Fig. 4), wie sie der normale Fruchtstand des *Acromonium* wohl aufweist. Schon Krüger¹⁾ und Mangin²⁾ erwähnen die beschriebenen Gebilde. Während jener sie als Appressorien anspricht, hält der französische Forscher, der ihre Größe, übereinstimmend mit unseren Größenbefunden, auf $8-11\mu : 1-1\frac{1}{2}\mu$ angibt, jene sichelförmigen Körperchen für Sporidien, eine Ansicht, welcher ich mit der vorhin gegebenen Deutung soweit beitrete. Eine Keimung dieser Konidien oder Sporidien habe ich ebensowenig beobachten können wie jene Forscher. Übrigens habe ich darauf bezügliche besondere Versuche auf weiter nicht angestellt.



Fig. 7. Keimende Askosporen von *Ophiobolus herpotrichus* auf gekochten Weizenpflänzchen. Vergr. 500 und A 700. Bei A sind die Keimschläuche in die Epidermiszellen eingedrungen; m Appressorium.

Krüger wie Mangin erhielten überhaupt bei ihren Kulturen „in künstlichen Nährmedien keine oder nur dürftige Keimpflänzchen“.

Auf Pflaumengelatine habe ich indessen ein feinfädiges Mycel mit seitenständigen kegel- bis flaschenförmigen Konidienträgern mit endständigen länglichen Konidien gezüchtet, wie es auf dem natürlichen Substrate allerdings in einer weit üppigeren und kräftigeren Entwicklung vorkommt.

Am 31. August hatte ich sodann auf Agar mit Birnsaftzusatz *Ophiobolus*-Sporen ausgesät, die teilweise noch in den Schläuchen steckten. Wie dann die in den ersten Wochen nach der Aussaat alle paar Tage vorgenommene mikroskopische Untersuchung des Nährbodens zeigte, so war nur ein Teil der Askosporen zur Keimung gelangt, ein anderer zugrunde gegangen, während die Asci stellenweise in kleinen Häufchen aufgebläht und zerflossen im Substrat lagen neben ungekeimten entleerten Sporen. Ein dritter Teil der Sporenaussaat erschien als mißgestaltete Keimlinge. Nach 8 Wochen zeigten sich tiefbraune Stellen in dem Nährmedium. Wie der mikroskopische Befund ergab, hatten sich hier sowohl ein perlschnurförmiges Dauermycel, als auch ein gelbbrauner Hyphenfilz von plektenchymatischer

¹⁾ a. a. O. p. 330.

²⁾ Nach einem Zitat bei Krüger, a. a. O. p. 330.

Struktur gebildet (Fig. 3). Und dieses braune Hyphengeflecht stimmte überein mit dem Stroma des *Ophiobolus herpotrichus* Fries, wie es am Halmgrunde der fußkranken Weizenpflanze auftritt. Außer dem perlschnurförmigen Mycel und dem braunen Hyphenfilz kam in der Agarkultur ein feines, zartes und blasses Hyphengewebe vor, das gleich einem Spinnennetze im Anschluß an jene Mycelformen den Nährboden durchsetzte. Und von diesen blassen Hyphen entsprangen seitenständig die Fruchtstände des Pilzes in Gestalt charakteristischer Konidienträger mit terminaler Konidie. Die ziemlich weitläufig und als Seitenzweige senkrecht von der Hyphe abstehenden langen Konidienträger waren stabförmig, mit bauchiger Basis entspringend und gegen die Spitze hin verjüngt zulaufend. Meist unverzweigt oder verzweigt. Und zwar alsdann derart verzweigt, daß der von der Hyphe abgehende Konidienträger sich nach kurzem Verlaufe gabelt, so daß zwei,

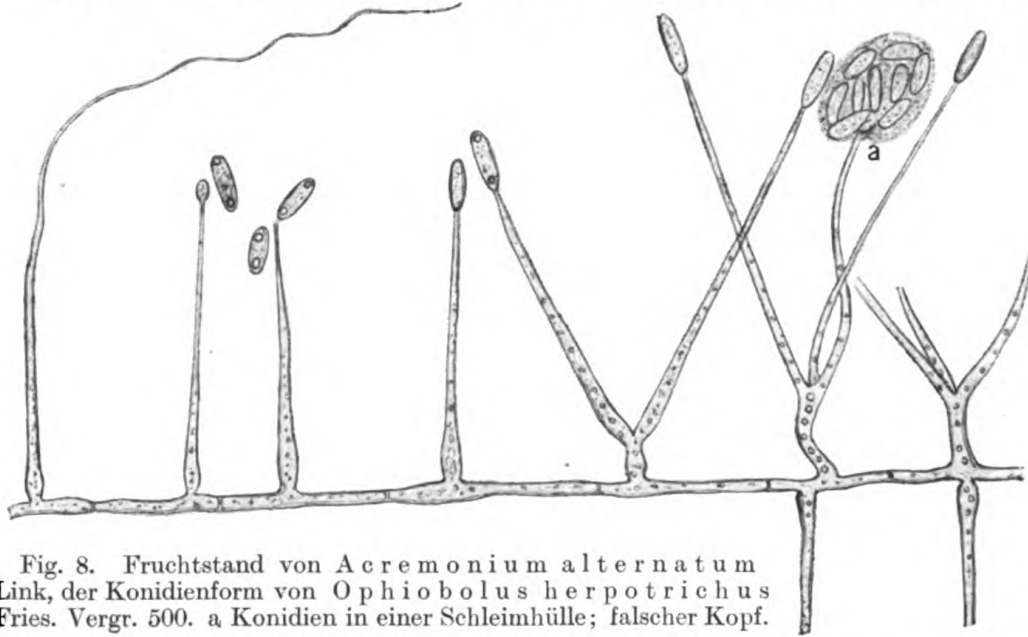


Fig. 8. Fruchtstand von *Acremonium alternatum* Link, der Konidienform von *Ophiobolus herpotrichus* Fries. Vergr. 500. a Konidien in einer Schleimhülle; falscher Kopf.

ungefähr gleich lange Zinken entstehen (Fig. 8). Oder statt dieser Dichotomie kommt es zu einer Dreiteilung, zu einer Wirtelbildung mit drei langen Zinken. Die Konidienträger sind unseptiert. Höchstens erscheint dicht über ihrer Basis eine Scheidewand. Ihre Spitzen sind gekrönt von je einer länglichen einzelligen Konidie, die doppelt so breit ist als die Spitze des Konidienträgers, worauf sie sitzt. Gewöhnlich sind die Konidien abgefallen und lagern dann in der Umgebung der Trägerspitzen. Die Konidien entstehen hintereinander, acrogen sukzedan. Oft wurden die Konidien von einer Schleimhülle zusammengehalten und saßen gleich einem Konidienköpfchen auf dem Konidienträger. Es war also eine falsche Köpfchenbildung erfolgt (Fig. 8 a). Eine ähnliche Erscheinung der Bildung und Abstoßung der Konidien tritt, wie wir vorhin sahen, bei den abnormalen Fruchtständen der *Ophiobolus*-Keimlinge auf. Während die meisten wechsel- und gegenständigen Seitentriebe der Hyphen sich zu Konidienträgern entwickeln, sind andere, die nach Ursprung, Bau und Form jenen gleichen, vegetativ ausgewachsen mit schnurförmigem Ausläufer. Um die Größenverhältnisse der Fruchtstände zu veranschaulichen, sei angeführt, daß in der Birnsaftagarkultur die einzelnen ungeteilten Konidienträger 32–50 μ lang und am Grunde 3 μ breit waren. Die

gabelig geteilten waren im ungeteilten Basalstück 6 μ lang und 4 μ breit, in den Gabelzinken 36—50 μ lang. Die Konidien hatten eine Länge von 4 μ und eine Breite von 2 μ . Wie die in Dauermycel übergegangenen Hyphen, so enthielten auch die blassen Hyphen sowie die Konidienträger große Öltropfen.

Die Mycel- und Fruchtbildung auf dem natürlichen Substrat.

Bei den zahlreichen Infektionsversuchen, die ich im August und September mit dem *Ophiobolus*-Pilz anstellte, indem ich dessen Askosporen auf junge gekochte Weizenpflänzchen übertrug oder die Keimlinge, welche aus den aufgefangenen Askosporen auf Birnagar hervorgegangen waren: bei allen diesen Auftragungen auf das natürliche Substrat entstand auf den in Petri-Schalen oder Probierröhrchen aufbewahrten Weizenpflänzchen nach 8—10 Tagen ein feiner, flockiger oder büscheliger weißgrauer Pilzrasen. Er hatte makroskopisch eine gewisse Ähnlichkeit mit den *Fusarium*-Mycelbüschchen, erschien jedoch bei weitem nicht so üppig und wolkig wie das dichte und wollige Mycel dieses *Hyphomyceten*. Unter der Lupe nimmt sich unser Pilzrasen aus wie ein sparriges Dorngebüsch. Mikroskopisch unterschied sich das *Ophiobolus*-Mycel allerdings schon auf den ersten Blick von dem *Fusarium*-Mycel.

Die Blatt- und Halmstückchen waren nach allen Richtungen von den Hyphen durchwuchert. Und an deren Oberfläche trat das Mycel mit seinen Fruchthyphen zutage. Sie haben sich größtenteils zu dicken Strängen dicht aneinander gelegt, gleichsam koremienartige Bildungen zustande gebracht. Und von diesen dicken Strängen bzw. ihren Hyphen gingen als senkrecht zu ihnen gestellte Seitenäste in kurzen Abständen zahlreiche, lange, gerade oder schwach gebogene Konidienträger ab, die in ihrer Gestalt Billardstäben glichen, wie wir sie schon aus den Kulturen auf künstlichen Nährböden kennen (Fig. 8). So gewährt denn auch auf dem natürlichen Substrate die einzelne Hyphe mit ihren zweizeiligen, gegen- oder wechselständigen, göneförmigen Seitenästen als Konidienträger mit endständiger länglicher Konidie ein überaus bezeichnendes Fruchtstandsbild. Die Konidienträger sind von ungleicher Länge, meist 26—38 μ lang und am Grunde 1,5—2 μ , an der Spitze 0,5—1 μ breit. Sie setzen sich scharf von der Hyphe ab. Die länglichen, terminalständigen Einzelkonidien sind 3—4 μ lang und 1—1,5 μ breit.

Unter bestimmten Bedingungen beginnt die Fruchtbildung schon recht frühzeitig an den Sporenkeimlingen. So lagen auf der Epidermis des Blattes der geimpften Weizenpflanze mehrere gekeimte *Ophiobolus*-Sporen nebeneinander. Ihre ursprüngliche Form bei dem Keimungsakte, wo die Spore stark quillt und sich bogig krümmt, war noch zu erkennen. Die Keimschläuche und die hieraus hervorgegangenen Hyphenverzweigungen ließen sich auf dem gekochten Blatte von ihrer Ursprungsstätte bis zu ihrem Ende verfolgen in einem mit Methylenblau gefärbten Objekte. Und da hatte sich denn schon an der einen Hyphe eines Keimlings ein einzelner Konidienträger mit endständiger Konidie gebildet, während bei einem benachbarten Keimlinge zwei Hyphen die vorhin beschriebenen abnormalen Fruchtstände hervorgebracht hatten. Wie auf dem künstlichen Substrat, so lagen auch hier auf dem natürlichen Nährmedium Häufchen von den abnormalen abgestoßenen Konidien an ihrer Bildungsstätte (Fig. 5). Im übrigen ließen die Hyphen mit den beiden verschiedenen Fruchtständen nichts Unterscheidbares voneinander erkennen. Nur in einer schon älteren Pilzvegetation auf einem mit den *Ophiobolus*-Sporen beschickten Weizenpflänzchen stach

eine solche Hyphe mit den abnormalen Fruchtständen auffällig von den Hyphen ihrer Umgebung ab, insofern als sie derber, starrer, großkalibriger und von kräftigerem Wuchs erschien und eine beginnende Gelbfärbung zeigte, also auf dem Wege zu einer Dauermycelform war, wie wir sie bereits kennen lernten.

Auf den im August mit den Askosporen von *Ophiobolus herpotrichus* infizierten gekochten Weizenpflänzchen erschienen dann zu meiner Überraschung im Laufe des Winters, zuerst Anfang Dezember, neben dem *Acremonium* vereinzelte braune Perithezien in den verschiedensten Größen. Sie ließen schon bei Lupenvergrößerung äußerlich durch ihre Borstenbekleidung vermuten, daß sie die Schlauchfrüchte des *Ophiobolus herpotrichus* seien. Allein der sichere Nachweis hierfür war nicht zu erbringen. Der mikroskopische Befund ergab zwar den charakteristischen Bau der behaarten Fruchtkapsel des *Ophiobolus herpotrichus*, aber zu einer Askosporenbildung war es noch nicht gekommen. Der Inhalt der Fruchtkapseln bestand aus einem überaus blassen, im Wasser leicht zerfließenden zarten Hymenium. Die zylindrischen Asci zeigten sich in ungleicher Ausbildung. Ihr grobkörniges Plasma erschien nach Methylenfärbung partienweise gruppiert in den größeren Schläuchen. Weitere Einzelheiten ließen sich bei der Zartheit des Objektes nicht deutlich genug erkennen.



Fig. 9. Traubige Hyphengebilde (Perithezienanlagen?) des *Acremonium*-Mycels auf gekochten Weizenpflänzchen. Vergr. 500.

Mehr als die Asci waren die Paraphysen entwickelt, bandförmig, baumförmig verzweigt und die Asci überragend, wie sie bezeichnend sind für *Ophiobolus herpotrichus*¹⁾. Einige andere, kleinere Perithezien hatten einen Kapselinhalt, der aus einer pulverigen Masse bestand. Einzelne kurze, blass

Hyphenäste entsprangen von der inneren, aus polyedrischen, blassen Zellen bestehenden Perithezienwandung. Es machte den Eindruck, als seien sie in der Entwicklung stecken geblieben und ihr Inhalt in Zerfall geraten. Die Fruchtkapseln lagen frei auf der Blattoberfläche. Sie wurden umgeben von kräftigen braunen sowie von blassen Hyphen, die auf der Blattoberfläche wie im Blattinnern verliefen. Die Endstücke der braunen Hyphen waren meist blaß. Von den Fruchtkapseln selbst entsprang ein büschelartiges dichtes Gewirr unverzweigter brauner und borstenförmiger Hyphen, die winkelig geknickt und verbogen von der äußeren Perithezienwand ausstrahlten. Sie gehören den borstenförmigen, starren Hyphentypus an, wie wir ihn aus unseren *Ophiobolus*-Kulturen kennen gelernt haben. Schon die jungen Fruchtkapseln weisen solche langen Borstenanhänge auf, Hyphenwuchsformen, die vielgestaltig als Perithezienbekleidung auch bei anderen Askomycetengruppen vorkommen.

Um die gleiche Zeit als die gekennzeichneten Perithezien auf den gekochten Weizenpflänzchen erschienen, zeigten sich auch eigenartige knäuelartige oder traubige Hyphengebilde (Fig. 9) im Mycel unseres *Acremonium*. Sie sind vielleicht als die ersten Anlagen des Perithezienpilzes anzusehen. Man gewahrt da, wie interkalar mehrere Hyphenglieder kugelig oder tonnenförmig anschwellen und, indem sich weiterhin die Zellen teilen,

¹⁾ Vergl. E. Voges, Über *Ophiobolus herpotrichus* usw. (a. a. O.)

ein traubenartiges, paraplektenchymatisches Hyphengebilde entsteht. Oder es treibt eine kräftige Hyphe einen kurzen Ast, der zu einem traubenartigen Hyphenknäuel auswuchert. Irgendwelche Bildungen, die auf die Einleitung eines Sexualaktes hätten schließen lassen, sind mir nicht aufgefallen.

Die systematische Stellung des Pilzes.

Wie früher schon hervorgehoben, so zeichnet sich unsere aus den Askosporen des *Ophiobolus herpotrichus* Fr. gezogene Konidienform durch einen charakteristischen Habitus aus. In der freien Natur findet sich nun dieser Hyphomycetenpilz in seiner Dauermycelform als Saprophyt auf abgestorbenen Weizenpflanzen. Und zwar erscheint er hier vornehmlich auf dem untersten Internodium sowie auf den Seitentrieben der vorzeitig abgestorbenen Weizenpflanzen. Er bildet da in seiner Dauermycelform einen Hauptbestandteil des schwärzlich-grünen Mycelbelages, der angeblich charakteristisch sein soll für die Fußkrankheit. Allein, dieser Belag setzt sich aus dem Mycel der verschiedensten Pilzformen zusammen, vornehmlich aus *Fusarium* und *Cladosporium*. Und diese Pilzgesellschaft verpflichtet ihre nahezu gleich gefärbten Hyphen derart miteinander, daß sie nur schwer oder überhaupt nicht auseinander zu halten sind, wie eingangs schon bemerkt. Die Hyphen unseres Pilzes präsentieren sich in dem Mycelbelag als lange, starre, meist unverzweigte borsten- oder haarförmige Hyphen, die man den größten Teil des Jahres an den Getreidestoppeln bzw. an den abgestorbenen Weizenpflanzen finden kann. Das *Cladosporium*-Mycel, das einen Teil des Pilzbelages am unteren Internodium der fußkranken Weizenpflanzen ausmacht, unterscheidet sich von ihm dadurch, daß dessen Hyphen weit kürzer und knorriger sind und gewöhnlich in aufrechten Büscheln mit Konidien sich einstellt. Oft ist das lose oder plektenchymatisch verfilzte gelbbraune Dauermycel unseres Pilzes durchzogen von den blassen, feinen Fäden des frischen Mycels, das aus jenen hervortrieb. Bringt man das Dauermycel auf künstliche Nährböden, so entsteht nach einiger Zeit eine Pilzvegetation mit den sonderbarsten dicken, tiefbraunen, plektenchymatischen Knäuel- und Strangbildungen sowie ein spinnwebiges feines, blasses Mycel mit reicher Fruktifikation.

Unser Hyphomycet, der an seinen schwach verzweigten, zu Strängen oder netzartig miteinander verbundenen Hyphen deutlich abgesetzte, einfache und typisch unverzweigte, seltener gabelig geteilte Konidienträger mit endständigen, einzelligen, länglichen Einzelkonidien hat, gehört somit nun zu der Gruppe der *Botrytidaea* und zu der Gattung *Acremonium* Link. Er steht *Verticillium* nahe, bildet wie dieses falsche Konidienköpfchen und chlamydosporenähnliches oder sklerotienartiges Dauermycel, zeigt, wie *Verticillium* auf künstlichen Nährböden ein gleiches Wachstum, indem nur ein sehr schwaches Luftmycel gebildet wird. Er unterscheidet sich aber von *Verticillium* durch den Fruchtstand, der nicht wie bei jener Pilzform stets verzweigt und quirlig ist, sondern typisch in zweizeiligen, wechselständigen, gewöhnlich ungeteilten Konidienträgern mit länglichen Einzelkonidien besteht. Auf unser *Acremonium* paßt die Diagnose von *Acremonium alternatum* Link, wie sie in Rabenhorst¹⁾ gegeben ist: Mycel spinnengewebeartig verbreitet, locker verflochten, weiß. Konidienträger als kurze, einfache, aufrechte Seitenäste am Mycel entstehend, zuge-

¹⁾ Kryptogamenflora von Deutschland, Österreich und der Schweiz. Bd. 8. 1907. p. 187.

spitzt, 40—50 μ lang. Konidien einzeln entstehend und zuerst vom Schleim umhüllt, und kugelig etwa 6—7 μ im Durchmesser, später ohne Schleim, länglich ellipsoidisch, bisweilen etwas gekrümmt, 6—10 μ lang und 2—3 μ breit, hyalin.

Schlußbetrachtungen.

Was in der vorhin geschilderten Entwicklung unseres Hyphenmycetenpilzes aus den Askosporen des *Ophiobolus herpotrichus* Fries auffällt, das ist der Gestaltenreichtum, es ist die Formenmannigfaltigkeit, die uns bei der Sporenkeimung, bei den Sporenkeimlingen sowie bei der Hyphen- und Mycelbildung und der Fruchtbildung sowohl nach der normalen, wie nach der pathologischen Seite hin entgegentritt. Der pilzliche Organismus unter der Gestalt der Askospore zeigt sich da in einer überraschend vielseitigen Reaktionsempfindlichkeit und Wandelungsfähigkeit. Sowie die Schlauchspore einzeln oder als Sporenbündel im Ascus mit diesem zugleich nach außen in Wasser oder auf ein festes Substrat aus dem Perithecium entleert ist, beginnt alsbald mit ihr eine starke Quellung, Streckung und häufig bogige Krümmung. Äußerliche Veränderungen, denen innere in den Sporenzellen parallel gehen, wie sie in der Umlagerung der festeren Bestandteile des Plasmas, die in die Nähe der Zellquerwände rücken, in der veränderten Vakuolenbildung und Gruppierung sowie Größenzunahme der Fettröpfchen zum Ausdruck kommen, in inneren Veränderungen des Zellplasmas, in die wir jedoch keinen näheren Einblick haben.

Sie leiten den Keimungsvorgang ein, der sodann normal oder abnormal verläuft. Normal, indem die Spore gewöhnlich aus den beiden Endzellen je einen Keimschlauch unter einem fast rechten Winkel hervortreibt, der auf dem natürlichen Nährsubstrat nach kurzem Verlaufe mehrere runde, nebeneinander liegende und als Appressorien anzusprechende Auftreibungen bildet, um dann von hier als Infektionshyphe über kurz oder lang in das Blattgewebe des gekochten Weizenpflänzchens einzudringen. Eine solche Appressorienbildung ist jedoch nicht regelmäßig. Oft sieht man, wie die Keimschläuche zu langen unverzweigten oder nur spärlich verzweigten Hyphen auswachsen, die weithin über die Blattoberfläche kriechen und ohne irgendeine Appressorienbildung in das Blattinnere treten. Nachdem dieses durchwuchert ist, erscheint an der Oberfläche des infizierten Blattes ein weißer, zarter Pilzrasen, der sich aus Strängen von Pilzfäden und einzeln verlaufenden Hyphen zusammensetzt. Von ihnen gehen dann seitlich, gewöhnlich in wechselständiger Anordnung als ungleich lange Hyphenäste die stabförmigen oder kegelförmigen, einfachen, seltener gabelig geteilten Konidienträger mit endständiger, einzelliger, länglicher Konidie ab: gestaltliche Fruchtbildungen, wie sie für *Acremonium alternatum* Link bezeichnend sind und somit die gezüchtete Konidienform diejenige des Schlauchpilzes *Ophiobolus herpotrichus* Fries ist. Ein Entwicklungsstadium dieses Pilzes, der von Frank als Weizenhalmtöter benannt wurde, in der irrtümlichen Annahme, daß er die Fußkrankheit der Weizenpflanzen verursacht.

Abweichend von dieser Art der Mycelbildung treiben andere Sporenkeimlinge wieder lange, unverzweigte, borstenartige Hyphen, an denen, und zwar in der Regel an ihrem Endstück, flaschenförmige, im Vergleich zu den normalen nur kurze und gedrungene, gegenständig oder mehrere dicht nebeneinander auftretende Konidienträger mit endständiger, einzelner, länglicher Konidie. Oder es kommt an diesen Hyphen, die zumeist auf den künstlichen Nährböden, seltener auf dem natürlichen Substrate gebildet werden, zu

einem absonderlichen Fruchtstande, indem der Halsteil des flaschenförmigen Konidienträgers lang ausgezogen ist mit mehrfachen Knickungen oder korkzieherartigen Drehungen und Einschnürungen und kurzen Seitensprossen. Diese Glieder fallen hinterher auseinander und lassen längliche, sichelförmige konidienähnliche Körper entstehen. Außerdem trifft man Sporenkeimlinge, die kräftige Hyphen mit kugeligen Gliedern getrieben haben, die gegen das Hyphenende in gestreckte übergehen. Oder wir finden in den Kulturen auf künstlichen Nährmedien Keimlinge mit gelbbraunen, starren, borstenförmigen, unverzweigten Hyphen, die nach kürzerem oder längerem Verlaufe blind endigen oder auch in blasse Hyphen mit Verzweigungen übergehen. So begegnet man *Ophiobolus*-Keimlingen, wo die schwach gekrümmte und gequollene, hyaline Spore an dem einen Ende knollig verdickt ist, und am anderen Ende hat sie einen langen Keimschlauch ausgesandt, der in eine unverzweigte, gelbgrüne, borstenförmige Hyphe umgewandelt ist, während aus der Mitte der Spore von einer zapfenartigen Ausstülpung eine feinfädige, blasse Hyphe ausgeht. An ein und derselben Spore entstanden also in der Kultur auf künstlichem Substrate diese beiden Mycelformen! Alle die beschriebenen verschiedenartigen Hyphen- und Mycelbildungen lassen sich in den meisten Fällen deutlich zurückverfolgen bis zu der gekeimten Spore als Ausgang. Anders würde man sie nicht für zusammengehörig erklären. Die borstenförmigen gelbbraunen Hyphen leiten zum Dauermycel hinüber, das wie das frische, blasse Mycel in zwei Wachstumstypen erscheint, die ineinander übergehen. Einmal sehen wir das sparrige, borstenartige, dünnfädigere in geknicktem, nur recht schwach verzweigtem Hyphenverlaufe. Zum anderen beobachten wir ein gelbgrünliches Dauermycel mit Hyphen von größerem Kaliber, kürzeren, vielfach torulierten Gliedern, mehr verzweigt und verfilzt, mit streckenweise plektenchymatischen Bildungen und Aussackungen, so daß knäuel- und sklerotienartige Mycelkörper entstehen. Ein derartiges Dauermycel bildet den oberflächlichen Überzug auf den grundständigen Blättern und am Grunde der Halme der fußkranken Weizenpflanzen.

Der Keimungsprozeß verläuft sodann abnormal, indem die Spore an ganz ungleichen Stellen kurze Keimschläuche treibt, oft mit einzelnen kugeligen Gliedern und konidienartigen Sproßenden, die derbwandig und gelbfarbig werden und eine Dauermycelform annehmen, so daß der ganze Keimling ein ästig knorriges Aussehen gewinnt. In manchen Kulturen liegen die torulierten Hyphen wie abgerissene Perlschnüre im Substrat. Die kugeligen Glieder fallen oft ganz auseinander.

Wie das morphologische und entwicklungsgeschichtliche, ebenso interessant ist das biologische Verhalten unseres Pilzes, wie es in den ungleichen Reaktionsweisen bei veränderten Nährmedien durch eigenartige Hyphen- und Fruchtbildungen und in seinem engen Zusammenleben mit ungleichen Pilzgenossen am gleichen Orte des Substrats zum Ausdruck kommt. Gleich den Phanerogamen, welche durch ihr Zusammenleben an dem gleichen Standorte charakteristische Gruppierungen oder Pflanzenformationen bilden, lassen auch die Pilze ähnliche Formationen entstehen. Eine solche Pilzformation tritt uns am Halmgrunde fußkranker Weizenpflanzen entgegen. Die betreffende Formation weist wie bei den Blütenpflanzen einmal einen ständigen Bestand und zum andern einen Saisonbestand auf. Ersterer setzt sich bei den Blütenpflanzen aus den perennierenden Gewächsen, bei den Pilzen aus dem perennierenden Mycel, dem Dauermycel der verschiedenen Pilzarten des Standorts zusammen. Der Saisonbestand geht bei beiden aus

Arten hervor, die zu einem bestimmten Zeitpunkte auftauchen, um nach der Fruktifikation in ihren vegetativen Teilen abzusterben und aus der Formation als Glied der bisherigen Gesellschaft wieder auszuscheiden. Und wie ferner das Bild der phanerogamen Pflanzenformation durch den Blütenflor ihrer Standortsarten wechselnde Züge erhält, so das der Pilzformation durch ihre periodischen Fruchtstände.

Die Pilzformation am Halmgrunde fußkranker Weizenpflanzen besteht nun, soweit ich bisher feststellen konnte, aus den in Dauermycel oder in Fruchtständen auftretenden Arten: *Ophiobolus herpotrichus* Fries, bzw. *Acremonium alternatum* Link als dessen Konidienform, sodann aus *Fusarium rubiginosum* App. et Wollw., *Hendersonia herpotricha* Sacc., ferner aus einer *Ascochyta*- und aus einer *Septoria*-Form, *Mucor racemosus* Fres., *Leptosphaeria Tritici* Pass., *Cladosporium herbarum* Lk., *Alternaria tenuis* Nees.

Ähnliche, aus mehr oder weniger zahlreichen Arten bestehende Pilzformationen werden sich auf den verschiedensten Substraten als Standorte feststellen lassen. So trifft man an Birnblättern vergesellschaftet *Septoria nigerrima* Fuck., *Hendersonia piricola* Sacc., *Phyllosticta pirina* Sacc., auf Apfelblüten *Fusicladium dendriticum* Fuck. und *Phyllosticta pirina* Sacc., Beispiele, die sich noch vermehren ließen. Zweifellos wird man, wenn daraufhin nur erst einmal die Beobachtung und Untersuchung gerichtet ist, bei diesen Pilzgesellschaften gewisse abhängige oder wechselseitig sich beeinflussende Beziehungen in bezug auf die Besiedelungs-, Ernährungs-, Vermehrungs- und Ausbreitungsweise, man wird einen Kampf um die günstigsten Existenzbedingungen unter den verschiedenen Artgenossen feststellen, wie sich das ja stets für die Glieder einer Lebensgemeinde an ein und demselben Orte unter den gleichen äußeren Existenzbedingungen ergibt. Gewiß werden wir da noch recht lehrreiche und interessante biologische Einblicke in das Zusammenleben der verschiedenen Pilzgenossenschaften erhalten, vor allem aber erkennen, wie es meist fehlsam ist, aus dem örtlichen Zusammenvorkommen gewisser Pilzformen auf ihre genetische Zusammengehörigkeit zu schließen, ein Trugschluß, der früher gängig war und heute auch noch gemacht wird.

Inhalt.

Original-Abhandlungen.

Cunningham Andrew, Studies on Soil Protozoa, p. 8.

Harder, Richard, Morphologie und Physiologie von *Hyalopus heterosporus* nov. spec., p. 27.

Löhnis, F. und **Hanzawa, J.**, Die Stellung von *Azotobacter* im System, p. 1.

Neger, F. W., Zur Frage der systematischen Stellung der sog. Ambrosiapilze, p. 45.

Voges, Ernst, Über *Ophiobolus herpotrichus* Fries, den „Weizenhalmtöter“, in seiner Nebenfruchtform, p. 49.

Abgeschlossen am 30. Juli 1914.

Hofbuchdruckerei Rudolstadt.

Centralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 42. No. 5/9.

Ausgegeben am 19. September 1914.

Originalberichte über Kongresse, Versammlungen etc.

Society of American Bacteriologists.

Montreal, Canada, December 31. 1913 and January 1. and 2. 1914.

Brown, P. E., Bacterial Activities and Crop Production.

The importance of correlating the results of bacteriological tests with known facts regarding soil fertility is emphasized. The improvements in methods for the bacterial examination of soils has made possible the study of the relation between bacterial activities and crops produced. Thus the determination of the ammonifying power, the nitrifying power, or the azo-fying power of soils may be an indication of their fertility or crop producing power or at least of the relative fertility of several soils.

Soils under varying rotations and under different treatment have been studied during the past three years and the results secured show in practically every case a similar, definite relation between the crops produced on the various plots and the ammonifying power and the nitrifying power of the soils determined by the fresh soil-casein method for the one and the fresh soil-ammonium sulfate method for the other.

It is evident that the bacterial activities in soils determine very largely the crop-producing power of the soils. If the bacterial mechanism which brings about the solution of insoluble plant food is inadequate, crops will suffer for lack of food. In soils where improper rotations and poor treatment are practiced the conditions very quickly become unsatisfactory for optimum bacterial growth and crops immediately feel the effect of this diminished growth in a reduced supply of food. The work as a whole therefore points toward the value of bacterial tests as a measure of the crop producing power of soils.

Laboratory of Soil Bacteriology and Soil Chemistry. Iowa State College, Ames, Iowa.

Hesselink van Suchtelen, F. H., The Environment of Soil Organisms.

Growing out of the importance of the action of media on organisms a study of soil as a cultural medium was undertaken.

So far as our present knowledge concerning soils extends, the only means at our disposal for judging the cultural medium of soil organisms is drainage water. It may be expected, however, that the soil solution as it exists in the soil differs quantitatively from the drainage water.

A method was devised for obtaining this soil solution based on its displacement by inactive substances (paraffine oil, vaseline, etc.). Work by means of the determination of osmotic pressure and electrical conductivity was undertaken, which demonstrated the value of such a displacement.

The absolute amount of soil solution obtained by the above mentioned method varied from 100—435 cc. solution. As an example of the successful extraction the following data may be quoted.

From 7.949 kilograms of sandy loam with a total water capacity of 24.6 per cent containing 14.3 per cent water (all figured on the basis of dry soil), there was obtained 330 cc. of soil solution.

The concentration of the soil solution bears a resemblance to the very first portion of drainage water obtained by careful percolation through a large quantity of soil.

Besides an extensive study of the soils employed in our experiments, there were made physico-chemical and chemical examinations of the liquid obtained by the foregoing displacement process, together with a determination of the number of microorganisms found by the plate method. It was ascertained that different soils, soils closely adjacent and the soils of different layers, contained soil solutions of different compositions.

Detailed results will appear in a future publication.

Conn, J. Joel, A new Medium for the quantitative Determination of Bacteria in Soil.

Three special media for soil work have been proposed during the last few years: by Hugo Fischer (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 25. p. 457), by J. G. Lipman (Id. Bd. 25. p. 447) and by P. E. Brown (Id. Bd. 38. p. 497). Recently an asparaginate agar containing wholly chemicals of known composition has been prepared at the N. Y. Experiment Station. A fifth medium, a soil-extract gelatin, has been compared with them, because it has been found to give a very high and regular count. The composition of these media are as follows:

	Asparag.- Agar	Fischer's	Lipman's	Brown's	Soil-Extr.- Gelatin
Water	1000	—	1000	1000	900
Soil-extract . .	—	1000	—	—	100
Agar	12	12	20	15	—
Gelatin	—	—	—	—	120
Peptone	—	—	.05	—	—
Albumin	—	—	—	.1	—
Na.-Asparag. . .	1.	—	—	—	—
Dextrose	1.	—	10	10	1.
MgSO ₄2	—	.2	.2	—
K ₂ HPO ₄	—	2.	.5	.5	—
NH ₄ H ₂ PO ₄ . . .	1.5	—	—	—	—
KCl1	—	—	—	—
CaCl ₂1	—	—	—	—
FeCl ₃	Trace	—	—	—	—
Fe ₂ (SO ₄) ₃ . . .	—	—	—	Trace	—

In the asparaginate agar the reaction should be carefully adjusted to 0.8 per cent normal acid to phenolphthalein. The dextrose and asparaginate should be added just before tubing.

Some thirty-five comparative tests of the gelatin with one or more of the other media have been made. Various soils have been used for inoculating. Incubation has been at 180° C. for seven days with gelatin and fourteen with agar, which allows a very high count (5—50 million in normal field soil). The following figures (referred to in terms of colonies on asparaginate agar as 100) represents instances that seem to be typical:

	Asparag.- Agar	Fischer's	Lipman's	Brown's	Soil-Extr.- Gelatin
Case 1	100	170	68	57	113
Case 2	100	85	75	Irregular	93

About forty other tests have been made to determine the best proportions of the various constituents in the asparaginate Agar. None have proved more satisfactory than the above formule.

As a result of this work the asparaginate agar is highly recommended. The only medium which seems better, either in respect to count or to the colony differentiation is soil-extract gelatin; and because of the addition of soil extract this gelatin is not one that can be readily duplicated. The only one of the media investigated which gives a higher count than either of these is Fischer's soil-extract agar, which does not allow good colony differentiation.

The detailed results of this work are to be published as a Technical Bulletin of the N. Y. Agricultural Experiment Station.

Lipman, Chas. B.,¹⁾ Antagonism between Salts as affecting Soil Bacteria.

With Loeb's conception of physiologically balanced solutions as a basis, the author has carried on experiments dealing with a phase of the subject hitherto regarded as of little significance, namely the antagonism between anions. The most striking results have been obtained with such antagonism between anions through the use of the so-called alkali salts which commonly include Sodium Chloride, Sodium carbonate and Sodium sulfate.

Results of antagonism between the anions of these salts show that both, as regards ammonification and nitrification, it was possible to improve the soil as a medium after it had been made toxic for the bacteria in question, by means of any one of these salts, through the addition of any other of the three salts mentioned. Thus briefly, it was possible at times to triple and quadruple the total salt content of the soil and still make it a better medium for ammonification and nitrification than it was with one-third or one-fourth of the total salt content consisting however, of but one salt. The author claims for this, great significance in the direction of the management and control of alkali land.

Brown, P. E. and Kellogg, E. H., Sulfonation in Soils.

Recent work has shown that considerably larger amounts of the element sulfur are removed from soils by the growth of crops than has been supposed. The inaccuracy of the old method used in the determination of the sulfur in crops explains the discrepancy. Soils have been shown to contain in most cases only a limited supply of sulfur, usually a smaller amount than of phosphorus. The problem of the sulfur feeding of plants is therefore coming to be of considerably more importance than it has been in the past. The natural means of returning sulfur to the soil is by the use of farmyard manure or green manure and in these materials it is added in a complex organic form in the proteins. The sulfur in these must be transformed into sulfates to be of use to plants.

¹⁾ Siehe auch diese Zeitschrift Abt. II. Bd. 41. 1914. p. 430.

Here is where the sulfofying bacteria appear. They are the agents which bring about the change of organic surfur into sulfates. Many questions immediately arise in a consideration of this point. Do soils have a sulfofying power? Can this be determined? How? What is the relation of the sulfofying power of soils to the sulfur feeding of plants? etc. This work deals with the first questions and shows that soils do have a definite sulfofying power which varies with the type of soil, soil treatment, etc.

The sulfofying power of soils may be determined in the laboratory in the following way:

100 grams of fresh soil obtained with all precautions that it shall be representative and uncontaminated are weighed out in tumblers and thoroughly stirred. Then 0.1 gm. of a sulfide (Na_2S) or sulfur is added. Moisture conditions are brought up to the optimum by additions of sterile water. The soils are incubated for 4—5 days at room temperature. At the end of that time the sulfates are leached out by shaking for 6 hours with water in a shaking machine. The sulfate content of the soil itself is determined and the purely chemical oxidation of the sulfide occurring upon shaking the sulfide for six hours with the soil is also ascertained.

The sum of these two is subtracted from the total sulfate content of the soil after incubation and the difference give the sulfofying power of the soil, or the physiological efficiency of the sulfuroxidizing bacteria in the soil. Many difficulties have been met in the work and largely overcome. Details regarding these will appear in a future publication. The point to be emphasized by the results so far is that soils have a definite sulfofying power which is determinable in the laboratory and therefore the efficiency of fertilization of soils with organic sulfur compounds may be ascertained for any soil.

Laboratory of Soil Bacteriology and Soil Chemistry, Iowa State College, Ames, Iowa.

Jones, Dan. H., Further Studies with some Azotobacter.

Viability of Azotobacter in Stock Cultures. Equal quantities of Azotobacter growth were taken from cultures grown on Ashby's agar for varying periods of time and plated out in beef gelatin. The relative colony counts were as follows:

Culture 16 days old	9,000 colonies
„ 2 months old	8,000 „
„ 5 months old	5,000 „
„ 7 months old	4,500 „
„ 1 year and 4 months old	2,200 „
„ 2 years and 2 months old	60 „

This work was duplicated with the four varieties of Azotobacter under observation with approximately same results.

Thermal Death Point of Azotobacter in Stock Cultures of Different Ages. The cultures used for the viability test were tested for their thermal death point, by mixing one loopfull of culture in 10 cc. of Ashby's solution and then held in water bath for 10 minutes at the required temperature.

All cultures heated up to 55°C . gave good growth.

All cultures heated up to 65° and over gave no growth.

Involution Forms. Involution forms of Azotobacter varying very much in shape and size may appear in cultures grown in

Ashby's solution and Ashby's agar at any temperature within growth limits. This tendency to produce involution forms is comparatively slight at 20—25° C. but excessive at 37° C. Involution forms taken from an Ashby agar culture 2 months old were tested for their power to reproduce in Ashby's agar in moist chambers. Fifteen were held under observation for four days, but during that time only one reproduced. Normal cells present in the same fields produced colonies which overgrew the involution forms.

Azotobacter and Plant Growth. It was decided to test the power of *Azotobacter* to fix sufficient atmospheric nitrogen for plant growth. Special vessels were designed for the purpose. These were filled with well washed quartz sand, sterilized, soaked with Ashby's solution and inoculated with *Azotobacter*, controls being kept. After two weeks, grains of wheat were sown in the pots of sand. These all germinated and gave growth producing plants 16 inches high in one month, but no difference was observed at this time between the culture plants and the controls.

Beckwith, T. D. and Vass, A. F., A possible Improvement in the Technique of Determination of the ammonifying Power of Soils.

One of the difficulties met with in determining the ammonifying power of soils is that part of the ammonia was lost under the older methods. We have found it possible to determine the total amount of ammonia given off by soils by a very simple method of laboratory technique. The soil, generally 100 or 200 grams in content, is placed in a 1000 cc. Erlenmeyer flask. In the top of the flask is inserted a two hole rubber stopper. The air is allowed to enter the flask through the inverted U tube. The outer tube is made of a simple elbow placed in the other hole of the stopper. This flask thus prepared is connected with a water pressure filter pump. In the series between the soil flask and the pump is placed a wash bottle containing $n/10$ H_2SO_4 . For purposes of an indicator this acid solution is colored slightly with chochineal. When soil and the material to be ammonified is placed in the soil flask, air is drawn through the system by the filter pump. The ammonia is intercepted by the acid. The indicator in the wash bottle shows the point of neutralization. When neutralized another wash bottle with an aliquot portion of acid is substituted. A final determination of the amount of ammonia in the soil flask plus that of the acid in the wash bottle shows the exact amount of ammonia given off. A large series of flasks and wash bottles may be served by the same filter pump, using appropriate connections of Y and T tubes with heavy walled rubber tubing. It is necessary to use screw pinch cock throughout the system in order to regulate the flow of air through the wash bottles and to see that none are cut off. Such a system should be used and adjusted for at least 24 hours before the soil and material to be ammonified are added in order to make sure that all is in perfect working condition.

Northup, Zae¹), A bacterial Disease of the Larvae of the June Beetle? *Lachnosterna* spp.

During the summer of 1912, the larvae of the June beetle, *Lachnosterna* spp. committed serious depredations to crops. Specimens sent in to the Entomological Department by the farmers were found to be diseased

¹) Siehe auch diese Zeitschrift Abt. II. Bd. 41. 1914. p. 321.

and were turned over to the bacteriological laboratory for the determination of the etiology of the infection, and in practicable to use the living parasite as a remedial measure.

This disease which is characterized by a blackening of the affected parts was found to be micrococcus, which was found microscopically in smears and in sections from diseased tissue. This organism was isolated from the affected tissues of a living grub and liquid cultures were used for the inoculation of the soil in which healthy larvae were then placed. Oftentimes infection occurred within a short time; the most marked infection occurred when an incision was made in the integument, a characteristic lesion developing within twenty-four hours.

It was discovered that an excessive amount of water in such inoculated soil favored the rapid progress of the disease. This seems to be one of the most important factors in determining the fatality of the infection.

This disease may be transmitted characteristically to larvae of the Southern U. S. June beetle, *Allorhina nitida* and to the American cockroach, *Periplaneta americana* but is non-pathogenic to rabbits or guinea pigs.

The black pigment characterizing the disease is probably produced directly or indirectly by the activity of the bacterial cells within the larval tissue; the cocci and the integument cells in which they are imbedded do not take the ordinary or the Gram stain but remain a dark brown in color. From the characteristic lesions produced by this organism it has been named "*Micrococcus nigrofaciens*".

No results have as yet been obtained in trying out this organism as a remedial measure for the destruction of the white grub. Cultures of the micrococcus have been sent to Porto Rico for this purpose.

Thomas, J. Bosley and Sandman, Edgar A., A numerical Comparison of the Organisms producing Gas in Lactose Bile isolated from the Baltimore City Water Supplies.

The water supply of Baltimore city is derived from two streams which flow through a rather populous rural district. The larger stream, which has an average daily flow of about one hundred million gallons drains a watershed supporting many large dairy farms, while the other, with a flow of twenty million gallons per day, is derived from a watershed supporting fewer dairy farms in proportion to its area, but known to be subject to a greater extent to possible sewage pollution.

It therefore occurred to us that there might be shown in one of these supplies, the presence of a different relative proportion of certain types of organisms than in the other supply; and a pollution derived largely from dairy-farms and creameries is obviously of a less serious character than a pollution caused principally by the introduction of sewage.

For the classification of these organisms four sugars, in addition to the customary use of gelatin, were used, viz: lactose, dulcitol, saccharose and dextrose. Endo's agar was used for isolating the organisms in pure culture, and the results of a study of the character of colonies formed on this medium is given in the original paper.

The average number per cc. of the several types of organisms was estimated by considering the number of positive and negative tests in each dilution and following the method described by Phelps before the American Public Health Association in 1907.

The results of this work, embracing 383 isolations from untreated water show an average number of 2.79 organisms per cc. giving cultural characteristics of *B. coli communis* and *B. coli communoir* and 9.31 organisms per cc. giving cultural characteristics of *B. (lactis) aërogenes* and *B. acidilactici*, in the Gunpowder River, which is exposed to pollution from dairy-farms, in comparison with 5.12 organisms of the former types and 4.98 of the latter types in the Jones Fall supply, which is more exposed to sewage pollution. It is therefore seen that although the total number of these organisms is about the same in either supply, there are nearly twice as many *B. coli*-like organisms in the supply subject to greater sewage pollution than in the Gunpowder River.

Winslow, C. E. A., Notes on the Bacteriology of Air and its Sanitary Significance.

Both mouth spray and dust contain buccal bacteria and at times pathogenic forms and might theoretically constitute sources of appreciable atmospheric pollution. Whether they actually do so or not can only be determined by quantitative studies of the bacteria actually present in air and particularly of the characteristic organisms of the mouth. Two sets of results bearing upon this point are here reported.

A series of 684 examinations of school room air in New York City made by Prof. Chas. Baskerville and the writer gave an average of 96 microbes per cubic foot. This includes all organisms developing on litmus lactose agar in five days at room temperature. 268 samples gave counts under 50, 178 between 51 and 100, 112 between 101 and 150, 39 between 151 and 200, 23 between 201 and 250, 12 between 251 and 300, and 17 over 300. Lactose fermenting streptococci (characteristic buccal forms) were found 52 times in 174 cubic feet of air giving an average of 30 per 100 cubic feet of air.

The second series of results includes 64 samples of outdoor air (mainly from New York city streets) examined in the course of a somewhat detailed study of air bacteriology now being carried on by the New York State Commission on ventilation. The average 20° count of 64 samples was 59 microbes per cubic foot. 24 samples showed less than 25, 18 between 26 and 50, 8 between 51 and 100 and 14 over 100. The maximum count was 395. At 37° in two days the average count was 48 microbes per cubic foot. 36 samples were below 25, 9 between 26 and 50, 9 between 51 and 100 and 7 over 100. Acid forming streptococci were absent from 12 cubic feet of air examined for their presence.

Breed, Robert S. and Brew, James D., The Usefulness of dried stained Smears of Milk as a Means of Detering the Sanitary Quality of Milk.

A number of tests of the method of making milk smears devised by Prescott and Breed (Journ. of Infect. Dis. Vol. 7. 1910. p. 632) have been made at the Geneva Experiment Station with a view of determining the sanitary quality of milk. It has been found to be a very rapid and efficient method of determining the total germ content where milk contains 100 000 or more bacteria per cc. The results secured probably represent

the real conditions so far as total germ content is concerned better than those secured on agar or gelatin plates.

By means of this test it is possible to separate milk as received at a milk station into two classes by a rapid examination of the prepared smears. The first grade of milk is that in which no bacteria are seen in 5 to 10 or more fields of the microscope. In all but eight of the sixty samples in which no bacteria were found the agar plate count was less than 100,000 per cc. and seven of the eight which exceeded this figure were less than 200,000 per cc. Such milk would sell in the New York City market as Grade A, selected pasteurized if properly pasteurized. In as much as a large proportion of the milk received at the particular milk station where the tests were made was of this quality this test would have been used to great advantage because it would have enabled the dealer to raise this part of his milk from Grade B to the Grade A class at no expense to himself or to the farmers supplying the milk except the cost of making the tests which is fortunately not great enough to be prohibitive.

The second class of milk would be that in which bacteria are readily found with the microscope. Such milk under present regulations would go on the market as Grade B milk if properly pasteurized.

The great advantage of this test over plate methods of examinations or other bacterial methods that require an incubation period is that results can be secured in a very few minutes and a large number of samples can be handled by a single person. Any person sufficiently skilled to handle a microscope can learn the technique and apply the method successfully.

The chief weakness of the method at present is that it is so new and has been tried out so little in a practical way that no one knows as yet how the results secured should be interpreted. The bacterial counts obtained are much higher than those obtained from the ordinary plate counts and there is no constant relationship between such counts where single comparisons are made. When a long series of comparisons are made between plate counts and these microscopic counts, it is found that greater discrepancies occur where the total number of bacteria is low than when the total number of bacteria is high.

A detailed report on this work will be published in a Technical Bulletin of the New York Experiment Station.

Dallyn, D. A., Field Organization and Laboratory Technique Canadian Section. International Joint Commission Pollution Investigation. 1913.

Period of Investigation — April 10th to October 10th, 1913.

Field Laboratory located at nine (9) bases, from Fort Frances, Ont. to Kingston, Ont.

Equipment at each base comprised:

2 incubators — 18° — 22° C. and 37° C., designed to hold maximum number of asmples.

2 sterilizers, one for glassware, and the No. 3 Bramhall Deane Autoclave.

400—500 petri dishes with copper cases.

4 copper 25 cc. pipette cases containing 30 pipettes each.

3 copper 1 cc. pipette cases containing 60 pipettes each.

300—400 6-oz. glass stoppered sample collection bottles.

Apparatus for obtaining deep samples.

Several hundred Dumas bulbs,

necessary table apparatus and media-making equipment.

Twelve thousand eight hundred (12,800) samples were collected and examined. The determination of the total bacteria count on nutrient agar (+ 10) at 18°—22° C. (48 hours), the count at 37° C. (24 hours), and the quantitative estimation of *B. coli* as indicated by fermentation in lactose bile at 37° C. (48 hours), not less than four (4) dilutions used for the latter—usually 1, 5, 25, 50 cc. were tubed ($1/1000$, $1/100$, $1/10$ only when required).

Sample collection points were located on straight lines by a time interval method (checked by different landmarks, Buoys and light-houses).

Stoppers and necks of sample bottles protected from contamination by a rubber dam held by a band. The dam was dipped in Mercuric chloride solution before being re-used.

Each Field Laboratory examined on an average of 52 samples per day. **M a x. a m o u n t** 103 samples per day for 3 days in succession.

Ten (10) to twenty (20) daily samples taken at each sample collection point.

Special paragraphs on Tabulation, Accounting System, Plating and Tubing Technique, Handling of Media, Media Reaction and Washing of Glassware.

Derick, Carrie M., The Influence of the Hypochlorite Treatment of Water upon the Development of Algae.

Professor Derick briefly reported some general observations incidentally made by a graduate student, Miss Clare Miller (Mrs. Westoneys), in the course of a study of the Algal Flora of the Island of Montreal, in 1911 and 1912.

Collections of algae made in October and November, 1911, were maintained in sixty or more aquaria in the Botanical Laboratories of McGill University. In addition to series in various media, parallel cultures were grown in ordinary tap water. At that time, the city water was being regularly treated with hypochlorite of lime, less than one part to a million parts of water being used. The development of deleterious bacteria being thus prevented, the cultures of algae in this water, which contained all the necessary mineral nutrients, were unusually vigorous and long-lived. At temperatures about 20° C., blue-green algae, especially *Oscillatoria tenuis* Ag., *O. splendida* Grev. and *Rivularia haematites*, Ag. flourished. *Anabaena*, on the contrary, usually died or passed into a resting condition within a few days. In March, however, it reappeared and grew well. Desmids, such as *Cosmarium*, *Closterium* and *Micrasterias*, as well as *Mougeotia*, *Ulothrix* and *Stigeoclonium*, which were collected in the spore stage, germinated and grew readily at a temperature of 20° C. *Spirogyra*, *Vaucheria* and *Cladophora* were most successfully grown at a temperature of 5° C. or less. The majority of the *Chlorophyceae* collected grew vigorously in city water, provided that the temperature was between 5° C. and 20° C. *Vaucheria*, *Scenodesmus* and other *Protococcaceae* flourished throughout the year. *Oedogonium* and *Chaetophora* developed freely toward spring. Distoms, such as *Navicula*, were plentiful at low temperatures.

By periodically renewing the water to prevent the concentration of the mineral contents and by guarding against excessive exposure to strong light,

many aquaria were kept in good condition during the following summer and supplied much material use for class-work throughout the winter of 1912—13. Towards spring, in 1913, *Scenodesmus* and a few other types crowded out less resistive groups, and the cultures were allowed to die during the summer of 1913.

Algae similarly treated in the Autumn of 1913 have not developed well. The summer was unfavorable to the majority and they were not in good condition when collected. *Spirogyra* and other *Conjugatae*, several of the *Protococcaceae* and *Oedogonium* began to grow after a few weeks. But in December, practically all of the aquaria contained species of *Bacillus*, *Spirillum* and *Vibrio*, as well as one or two water moulds. Several factors probably contributed to this result. A less rigorous use of hypochlorite of lime in the treatment of the city water was suggested as a partial explanation by Dr. Adami during the discussion which followed the reading of the paper.

It is obvious that when water-supplies are freed from bacteria by means of hypochlorite of lime, such a free development of algae is permitted as to require treatment by copper sulphate or other measures to prevent pollution.

Evans, Alice C. and Hastings, E. G., A Study of the Bacteria concerned in the Production of the characteristic Flavor in Cheese of the Cheddar Type.

A comparative study of the flora of raw and pasteurized-milk cheese of the Cheddar type has been made, with reference, particularly, to the production of characteristic flavors. The raw-milk cheese flora was found to consist of the following four groups of cheese organisms: *Bact. lactis acidii*, *Bact. casei*, *Streptococci* and *Micrococci*. Several varieties of each group occur in the cheese, according to the classification as determined by the fermentation in broth containing carbohydrates or related substances. The flora of pasteurized-milk cheese is shown to depend upon the organisms introduced in the starter, with the exception of the *Bact. casei* group, which develops slowly and is concerned with the production of the biting flavor in mature cheese.

Many experimental pasteurized-milk cheeses were made with starters consisting of the organisms isolated from normal raw-milk cheese, either in pure culture or in varying combinations. The results of these experiments showed that pronounced differences in the flavor could be brought about by varying the cultures in the starter. Certain combinations in the starter resulted in an improvement of the flavor.

Ayers, S. Henry, and Johnson, William T., A synthetic Medium for the Determination of Colon Bacilli in Ice-Cream.

In a study of the bacteria in ice-cream we have endeavored to prepare a synthetic medium for the detection of colon bacilli. During the experiments 53 different combinations were tried. The most satisfactory medium was made as follows: Agar, 1.5 per cent, asparagin 0.3 per cent, sodium dibasic phosphate 0.1 per cent, lactose 1.0 per cent, and 2 per cent of a saturated solution of litmus.

The majority of the bacteria in ice-cream did not grow on this medium, while colon bacilli showed quite characteristic acid colonies which with a little practice could be readily detected. The colon count on litmus lactose asparagin agar was compared with the estimated number from lactose bile tubes in 43 samples of ice-cream. In 41 of the 43 samples the number determined on the plates was higher than the estimated number from the bile tubes.

Suspected colon colonies on the asparagin plates from 19 samples were picked off and inoculated into lactose broth fermentation tubes. From ten plates all the suspected colonies or 100 per cent proved to be gas formers. Among the other nine plates the percentages ranged from 87.17 per cent to 98.01 per cent. This shows that it is possible to detect quite accurately any colonies of gas-forming bacteria on litmus lactose asparagin agar.

A comparison of this medium with Endo medium showed that the colon count on asparagin agar was much lower than that on the other medium. We found, however, that in some cases at least it was impossible to consider all typical colonies on Endo plates as colon bacilli.

Certain strains of *B. coli* failed to give typical colonies on Endo plates and acid and peptonizing bacteria gave reactions similar to some of the colon strains.

It is evident that we have no entirely satisfactory method for the determination of colon bacilli, but it is believed that the use of synthetic media may be developed to a point where it will be superior to other methods.

Rogers, L. A., A satisfactory Platinum Needle.

The tendency of platinum needles set in glass handles to break when they are flamed, is a source of annoyance.

A needle which will avoid this trouble may be made by fusing the platinum wire into a copper wire. This may be done by twisting a bit of small wire about the platinum wire and holding in the flame of a blast lamp until it forms a ball at the end of the wire. The copper ball and the end of a copper wire of the proper size are held together in the flame until they fuse. The rough joint obtained may be hammered or filed to approximately the diameter of the copper wire, which should be large enough to insure rigidity. The wire may be mounted in a capillary tube of in an ordinary glass tube with plaster of Paris. The needle may be thoroughly flamed without danger of breaking.

A. Parker Hitchens (Glenolden).

Referate.

Nadson, G. A., Mikrobiologičeskje očerki. [Mikrobiologische Studien]. I. II. (Bull. du jard. impér. botan. de St. Pétersbourg. XII. p. 55—89, av. 2 pl.) [Russ. m. deutsch. Résumé.]

I. *Chlorobium limicola* Nads., ein grüner Mikroorganismus mit inaktivem Chlorophyll. In den „Izvěsti Imp. Acad. St. Petersburg“ T. VI. 1906. p. 190 besprach Verf. diesen schlammbewohnenden, bakterienähnlichen Organismus in einer vorläufigen Mitteilung. Die weiteren in vorliegender Arbeit publizierten Studien über denselben ergaben folgendes: Die Zellen sind kugelig, 0,6—0,7 μ Diameter, doch auch Übergänge zu reinen Stäbchen mit gleichem Durchmesser, oft in Klettchen. Unter ungünstigen Verhältnissen verschiedene schrauben- oder spirillenartige Involutionsformen. Vermehrung durch Querteilung. Keine Stärke; dafür echtes Chlorophyll, das sich im Lichte und in völliger Finsternis (auch bei Überimpfungen!) bilden kann, in beiden Fällen aber nur bei Sauerstoffabwesenheit oder nur bei Spuren von ihm. Ein aërophiler Organismus, der im Lichte besser gedeiht, als in der Finsternis. Reinkulturen gelungen. Bemerkenswert ist die permanente Funktionslosigkeit des Chlorophylls, d. h. es wird kein Sauerstoff abgeschieden (geprüft mit Methode Engelm ann). Auch sind *Chlorobium*-Kolonien nie von einer grauen Zone des oxydierten Schlammes umgeben, während dies bei Kolonien von *Rhodospaerium diffluens*, *Chlorella* sp. usw. stets der Fall ist. Die Art lebt mit Schwefelpurpurbakterien auf Schlamm und gehört zu den sog. „grünen Bakterien“, welche Gruppe nach Verf. aber eine ganz unnatürliche ist. Es erfolgt also keine präzise Einreihung der Art in das „System“. Die „grünen Bakterien“ von Winogradsky sind wohl zu *Chlorobium limicola* zu stellen, aber sie spielen deshalb im Leben der Schwefelpurpurbakterien keine Rolle (im Gegensatz zur Ansicht Winogradsky's), weil sie diese nicht mit Sauerstoff versorgen können. Die Schwefelbakterien gedeihen, wie Verf. Kulturen zeigen, unbegrenzte Zeit ohne die grünen Bakterien. Vielleicht existiert eine größere Verwandtschaft zu *Stichococcus* (einzellige Grünalgen) oder zu den winzigen grünen Organismen des sog. Nannoplankton. Verbreitung: Wohl sehr verbreitet; bisher vom Verf. auch Brack-, Meeres- und Süßwasserschlamm gefunden und zwar um St. Petersburg, Gouv. Cherkow, Baltisches, Schwarzes und Kaspisches Meer.

II. Über die Farbe und die Farbstoffe der Purpurbakterien: Am Lichte scheiden sie keinen Sauerstoff aus, wofür der Mangel einer grauen Zone um die Kolonie auf dem Schlamme spricht (von Molisch auf eine andere Weise nachgewiesen). Die weißlich-rötliche oder blaßrosa Zone um die Kulturen besteht aus schwach gefärbten bis farblosen Zellen. Für den Farbenkomplex, der in der Zelle der Purpurbakterien vorkommt, schlägt Verf. vor, den Namen „Bakteriopurpurin“ beizubehalten, wozu also gehören: das rote Lipochrom (Bakterioerythrin = Bakteriopurpurin) und der grüne Farbstoff (Bakteriochlorin). Diese beiden Farbstoffe sind früher als durch Molisch bekannt geworden. Die Purpurbakterien können ihren roten Farbstoff ganz oder teilweise verlieren, ohne hierbei irgendwie zu degenerieren. Es bestehen also verschieden gefärbte Rassen, ja sogar ganz grüne (in denen also nur das Bakteriochlorin vorkommt). Verschiedene Kulturen von Schwefelpurpurbakterien (*Chromatium vinosum*, *Ch. minutissimum*) werden farbig dargestellt. Es ist vielleicht möglich, daß

Lauterborns Chlorochromatium und Szaifers Thiospirillum jenense Organismen darstellen, die eben nur den grünen Farbstoff entwickeln. Matouschek (Wien).

Harper, R. A., Nuclear Phenomena of sexual Reproduction in Fungi. (Amer. Naturalist. Vol. 44. p. 533—546.)

Das alte Dogma, daß parasitische Lebensweise Verlust der Sexualität zur Folge hat, findet von Jahr zu Jahr mehr Widerspruch. Durch die neuesten Untersuchungen ist nunmehr auch für die Pilze die geschlechtliche Fortpflanzung als Regel festgestellt worden.

Verf. schildert die verschiedenen Arten der geschlechtlichen Fortpflanzung in den verschiedenen Gruppen der Pilze mit besonderer Berücksichtigung der Kernverhältnisse und stellt folgende sechs Typen auf:

1. Verschmelzung vielkerniger Gameten.
2. Das männliche Element besteht aus einer Masse Gonoplasma, nicht aus einer bestimmt umgrenzten Zelle.
3. Endokaryogamie. Die Kernverschmelzung kommt nicht durch Zellverschmelzung zustande, sondern durch mehr oder weniger entfernt verwandte Kerne.
4. Gametenverschmelzung ohne Verschmelzung ihrer Kerne; letztere vermehren sich durch gleichzeitige Teilung und verschmelzen erst kurz vor der Reduktionsteilung.
5. Befruchtung durch Wanderung der Kerne von den vegetativen zu den fertilen Zellen.
6. Zwei aufeinander folgende Verschmelzungen in demselben Entwicklungskreis: normale Gametenverschmelzung und Endokaryogamie.

W. Herter (Tegel).

Moreau, M. et Mme F., Les corpuscules métachromatiques et la phagocytose. (Bull. Soc. Myc. France. T. 29. 1913. p. 170—173.)

Verff. konnten das Vorhandensein von metachromatischen Körperchen in einer größeren Anzahl von neuen Fällen feststellen, und zwar in den Endophyten der Orchideen, in den Hyphen und Mycelfäden, welche die Perithezien von Sphaerotheca Castagnei überziehen, in den gesunden und völlig intakten Hyphen und Fruktifikationsorganen der Uredineen, in den Zygosporien von Mucorineen usw. Diese Befunde sprechen gegen die Annahme, daß die metachromatischen Körperchen die Überbleibsel der Phagocytose der Mycelhyphen durch die Wirtszellen sind. Es ist ebenfalls die Ansicht zu verwerfen, daß zwischen dem Vorhandensein der metachromatischen Körperchen und dem Lebenszustand der Zelle eine Beziehung besteht.

Lakon (Tharandt).

Kossowicz, Alexander u. Gröller, Leopold von, Rhodanverbindungen (Schwefelcyanverbindungen) als Kohlenstoff-Stickstoff- und Schwefelquelle für Schimmelpilze, Sproßpilze (Hefen) und Bakterien: 1. Mitteilung. Verhalten der Schimmelpilze zu Rhodanverbindungen. I. (Zeitschr. f. Gärungsphysiol. Bd. 2. p. 59.)

Botrytis Bassiana, Penic. glaucum, Mucory Boidin, Cladosporium herbarum, Phytophthora infestans, Penicilium brevicaulis, Aspergillus glaucus, Aspergillus niger, Isaria farinosa und Fusisporium vermögen Rhodanverbindungen als Stickstoffquelle und Schwefel-

quelle, nicht aber als Kohlenstoffquelle zu verwerten. Schwefel wird hierbei nicht abgeschieden. *Mucor Boidin* entwickelt in rhodanhaltigen Nährlösungen Schwefelwasserstoff, eine Erscheinung, die bei *Aspergillus niger* und *Aspergillus glaucus* nur ausnahmsweise beobachtet wurde. Auch in 10-proz. Rhodanlösung kommen die zehn obengenannten Pilze zur Entwicklung und erfahren keine Abtötung, doch übt schon ein Gehalt der Nährlösung von 0,5 KCNS auf diese Pilze eine Entwicklungshemmung aus.

K o s s o w i e z.

Čelakovský, Lad. Fr., Weitere Beiträge zur Fortpflanzungsphysiologie der Pilze. (Sitzungsber. d. kgl. böhm. Gesellsch. d. Wissensch. in Prag, math.-nat. Kl. St. VIII. p. 1—55.)

Mucor racemosus wurde gezwungen, seine Hyphen in Paraffinöl auszubreiten; es trat Zweigbildung, ohne Fruktifikation, ein. Die Ursache ist der Transpirationsmangel. Die Mehrzahl der Pilze, auch die Schimmelpilze, hat Fortpflanzungsorgane, die dem von einer Transpiration scheinbar unabhängigen Lufttypus angehören, was daran zu erkennen ist, daß stets die besagten Luftorgane sich auch entwickeln, wenn man die umgebende Atmosphäre bei konstanter Temperatur dampfgesättigt hält. Dieser biologische Typus ist ein strenger oder obligater, wenn die mannigfaltigen Fortpflanzungsorgane nur in der Luft (nicht in einem wasserhaltigen Medium) entstehen, oder er ist ein fakultativer Lufttypus, wenn dieselbe Fortpflanzungsart annähernd ebensogut innerhalb einer Nährlösung wie außerhalb derselben sich entwickeln kann. Es gibt aber auch Übergänge. Während ihres normalen Wachstums senden viele Pilzarten nur sterile Hyphen ins trockene Paraffinöl, um hier später in schwachem Grade zu fruktifizieren. Die im Vergleich zur Luft so gesteigerte Hyphenproduktion im Paraffinöl läßt sich nicht abschaffen durch Zucht auf sehr verdünnten Nährlösungen, durch Zucht bei niedriger Temperatur, durch Verdrängung der Luft des Kulturgefäßes durch Sauerstoff. Leitet man die Hyphen in starke Emulsionen von Wasser im Paraffinöl, so wird die Fruktifikation unterdrückt. Dies trat bei allen studierten Pilzarten stets und auch dann ein, wenn man plötzlich reines Wasser (statt der Nährlösung) nahm. Doch genügten einmal sehr schwache Emulsionen, das andere Mal waren sehr starke nötig, um die Fortpflanzung zu hindern. Es kann also unter gewissen Umständen die außerhalb des wasserhaltigen Substrates allein mögliche Fortpflanzung von einer Transpiration oder einem sie unter Umständen ersetzenden Wasserverlust (im trockenen Paraffinöl) unabhängig sein. Dies untersucht Verf. des Näheren bei den drei Pilzen *Mucor mucedo* (L.), *Aspergillus clavatus* Desm., *Sterigmatocystis nigra* v. Tiegh. Hier zeigte sich stets weitgehende Unabhängigkeit der Fruktifikation von der Emulsionsstärke, speziell in jenen Fällen, wo zuletzt nur aqua destillata vorlag. Die ersten Stielanfänge werden bei allen drei Pilzen an Wasserhyphen angelegt. Die Stiele entwickeln sich nur dann weiter, wenn sie dem Wasser entrückt werden. Nur die Anwesenheit des tropfbar flüssigen Wassers im Nährmedium hält die Weiterausbildung der Stiele hintan. Die Ursache der Entstehung eines Stielansatzes liegt im Nährstoffverbrauch oder -Entzug, manchmal auch in den obwaltenden Sauerstoffverhältnissen. Beim genauen Studium der genannten drei Pilze (submerse Kultur, Überführung in aqua destillata oder in Salzlösungen, das Einwachsen aus Wasser in feuchte Luft oder trockenes bzw. feuchtes Paraffinöl usw.) zeigte sich immer, daß vom Wasser ein die

Fortpflanzung hemmender Einfluß ausgeht, der nur beseitigt wird, wenn die Stiele in wasserfreie oder wasserarme Medien einwachsen. Für den Hemmungserfolg in der Paraffinölemulsion ist die geringere Viskosität des Öls und die davon abhängige leichte Beweglichkeit der Tröpfchen sehr wesentlich. Infolge der transpiratorischen und sekretorischen Wasserabgabe nimmt der Turgor ab. Die das Wasser verlassenden Stiele können sich von einer Transpiration unabhängig weiter entwickeln, indem sie wahrscheinlich durch Guttation dazu gereizt werden. Reizauslösend wird letztere besonders dort, wo die Transpiration im dampfgesättigten Raum unmöglich stattfinden kann.

M a t o u s c h e k (Wien).

Stadel, O., Über einen neuen Pilz, *Cunninghamella Bertholletiae*. [Dissert.] 8°. 35 pp. Kiel (Lüdtke & Martens) 1911.

Auf einer aus Brasilien stammenden, verschimmelten Paranuß wurde in Kiel eine neue Mukorinee gefunden. Verf. beschreibt den Pilz als *Cunninghamella Bertholletiae*.

Die Fortpflanzung der neuen *Cunninghamella* erfolgt durch Konidien und Gemmen. Letztere entstehen fast ausschließlich in flüssigen Nährmedien. Besonders lebhaft Gemmenbildung tritt bei Ernährung durch Fette ein. Die Konidienbildung hört in Glukose schon bei 50 Proz., in Glyzerin bei 10 Proz. auf, während das Wachstum erst bei 60 Proz. Glukosegehalt oder 25 Proz. Glyzeringehalt eingestellt wird. Gegen Säuren zeigt sich der Pilz wenig empfindlich. Er fruktifiziert noch auf 1 Proz. Apfel- und Zitronensäure; Mycelentwicklung findet noch bei stärkerer Azidität statt. Bei Sauerstoffmangel sterben die C.-Mycelien ab; die Sporen vermögen nicht anaërob zu keimen. Im Dunkeln entwickelt sich C.-*Bertholletiae* besser als im Tageslicht. Erhöhung der Transpiration hat Verminderung der Mycelentwicklung und Förderung der Fruktifikation zur Folge.

In Scheiben geschnittene Paranüsse werden von dem Pilz nur dann angegriffen, wenn die Samen vorher durch Hitze getötet worden sind.

Auf ölhaltigem Agar entwickelt sich der Pilz am besten bei 5 Proz. Ölgehalt. Von den untersuchten Schimmelpilzen gedeihen nur einige Ascomyceten gut auf fetten Ölen; auf fettsauren Salzen entwickelten sich außer *Cunninghamella* nur *Mucor racemosus* und *Aspergillus Wentii*.

Konidienträger des Pilzes in verschiedener Vergrößerung sind abgebildet.

W. Herter (Porto Alegre).

Sumstine, D. R., Studies in North American Hyphomycetes. II. (Mycologia. Vol. 5. 1913. p. 45.)

Verf. gibt in der vorliegenden Arbeit einen mit Bestimmungsschlüsseln versehenen Überblick über die Oosporeae Nordamerikas; für jeden Pilz wird die Diagnose angegeben.

Auf faulendem Holz kommen *Oidium aureum*, *O. simile*, *O. megalosporum* und *O. murrilliae* n. sp. vor. Zur Gattung *Oospora* werden die Monilien gerechnet, so *Oospora fructigena*, *O. cinerea*, *O. cerasi*, *O. linhartiana*, *O. fungicola*, *O. arthuri* (*Monilia candida*) und *O. martinii*. Für *Oidium lactis* wird die neue Gattung *Oosporoidea* aufgestellt. Zu der neuen Gattung *Toruloidea* werden verschiedene Oosporen gerechnet, so *Oospora nicotianae*, *O. tulipiferae* und *O. candidula*; außerdem gehören zu dieser Gattung die neuen Arten *Toruloidea effusa* und *T. unangistii*. Ferner werden aufgezählt *Polyscytalum cylindroides*, *P. sericeum*, *Geotrichum candidum*,

G. cuboideum (*Oospora cuboidea*) und *Malbranchea pulveracea* (*Monilia pulveracea*).

Die Gattung *Acrosporium* Nees., welche die Konidienformen von Erysiphaceen umfaßt, wird Verf. später ausführlicher behandeln. Es steht nicht im Einklang mit den Nomenklaturregeln und ist außerdem höchst unzweckmäßig, wenn Verf. neue Namen für die Konidienformen einführt, zu denen bereits Perithezien bekannt sind; so ist es z. B. überflüssig, die Konidien von *Erysiphe graminis* *Acrosporium hyalina* zu nennen, die Konidien von *Uncinula necator* *Acrosporium tuckeri* usw. Als neue Spezies wird *Acrosporium gossypii* beschrieben; zu diesem Pilz sind noch keine Perithezien bekannt.

Riehm (Berlin-Dahlem).

Moreau, F., Sur une nouvelle espèce d'*Aedocephalum*. (Bull. Mycol. France. T. 29. 1913. p. 239—241. 1 Fig.)

Verf. fand auf einem auf Elefantenmist wachsenden Dicotyledonenkeimling einen zu den *Cephalosporeen* (*Mucedineae-Hyalosporae*) gehörenden Pilz. Der Pilz konnte als eine neue Art von *Aedocephalum* erkannt werden; er erhält den Namen *Aed. longisporum*. Die Diagnose lautet:

„Hyphae steriles repentes, parcae; fertiles erectae, in fasciculi speciem, pallide virentes, simplices, $\frac{1}{4}$ mm. longere, apice inflatae; visicula non areolata. Conidiae hyalinae, longissimae, cylindraceae, 50—60 μ longae, 4 μ diam. Hab.: in plantula ex fimo elephantis. Paris.“

Lakon (Tharandt).

Bertrand, G., Sur le rôle capital du manganèse dans la formation des conidies de l'*Aspergillus niger*. (Compt. rend. Acad. Scienc. Paris. T. 154. p. 381—383.)

Nach Raulin, Sauton, Javillier und Verf. erscheinen die schwarzen Konidien von *Sterigmatocystis* in solchen Nährlösungen, die Eisen ohne Zink oder Eisen mit Zink enthalten. Sie erscheinen aber nicht, wenn man nur Zink einfügt, kommen aber zum Vorschein, wenn weder Eisen noch Zink in dem Substrate vorkommt. — Mangan ist auch ein ernährendes Element, das synergetisch für die Bildung und das Wachstum der Konidien wirkt. Ist das Element reichlicher vorhanden, so bilden sich die schwarzen Konidien normal aus, deren Zahl allerdings deshalb beschränkt ist, weil der sie erzeugende Thallus selbst wenig entwickelt ist.

Matouschek (Wien).

Breslauer, A., A propos du dimorphisme sexuel des *Mucorinées*. (Bull. Soc. bot. Genève. Sér. II. T. 4. p. 228—237.)

Die Progameten entstehen auch auf dem heterothallischen *Mucor hiemalis* Wehm. dadurch, daß Myceläste sich zufällig berühren. Aus den an dieser Stelle entstehenden Knötchen entstehen die Progameten. Kulturversuche belehren uns, daß die Anwesenheit eines Extraktes oder die von Zellresten eines Geschlechts im Nährsubstrate des anderen den letzteren nicht im Wachstum beeinflussen. Ferner erfolgt bei der +-Form die Absorption (bei allen Versuchen mit Kohlehydraten) leichter als bei der —-Form.

Matouschek (Wien).

Vuillemin, P., Répartition de *Gonatobotrytidae* entre les *Conidiosporés* et les *Blastosporés*. (Bull. Soc. bot. France. 58. p. 164—170.)

Nur die Gattung *Gonatobotrys* Corda (mit dem Typus *G. simplex* Cda. 1839) in der Familie der *Gonatobotrydeen* entwickelt Konidien.

Die Gattung *Oedocephalum* wird zu den *Botrytiden* gestellt. Die Gattung *Gomphinaria* Preuß 1851 muß als gutes Genus an die Seite von *Gonatobotrys* gesetzt werden. *Gonatobotryum* und *Stachybotrys* sind in die Sektion der *Pheosporeen* der *Verticilliacen* zu stellen. *Nematogonum* ist zu *Physospora* zu stellen. Die Gattung *Gonatorrhodiella* verbindet *Nematogonum* mit *Hormodendron* und mit *Cladosporium*.
Matouschek (Wien).

Bainier, G., *Mycothèque de l'École de Pharmacie. XXXII.* (Bull. Soc. Mycol. France. T. 26. p. 384—389. Pl. XXI.)

Auf nassem Stroh fand Verf. einen Pilz, der eine neue Art der Mucedineengattung *Gliocladium* darstellt. Er gibt ihm den Namen *G. prolificum* Bain. n. sp. In künstlichen Kulturen gezogen, bildet der Pilz zuerst Konidien von verschiedener Form und Größe (gewöhnlich eiförmig 4,2 μ u. 6,3 μ); später bildet er auch Perithezien. Dieselben tragen je 8 Ascosporen mit einer dicken, warzenförmig verdickten Membran und von einem Durchmesser von 25—28 μ .
Lakon (Tharandt).

Sommerstorff, Hermann, Ein Tiere fangender Pilz. (*Zoophagus insidians* n. gen., n. sp.) (Österr. botan. Zeitschr. Bd. 61. p. 361—373. M. 2 Taf.)

Einen sonderbaren Pilz fand Verf. zu Gratwein in Steiermark (Tümpel), spärlich zwischen *Cladophora* in stehendem Wasser teils frei, teils epiphytisch auf dieser Alge, diese in langen Windungen umschlingend. Das Plasma im Mycel ist in lebhafter Bewegung. An den Kurzhyphen bleiben diverse Rotatorien hängen; direkte Beobachtung liegt vor. Heftig schlagen sie mit dem Schwanze, nach $\frac{1}{2}$ Stunde werden sie bewegungslos. Wie werden diese Tierchen gefangen? Nur eine Klebewirkung auf einen bestimmten Reiz ist anzunehmen, da Infusorien z. B. nicht hängen bleiben. Jedenfalls hängt die Reizung mit der spezifischen Beschaffenheit der Mundöffnung der Tiere zusammen. Normalerweise bekommt das Rädertierchen die Spitze der Kurzhyphe in die Mundöffnung, erstere ist mit Schleim überzogen. Ist dies geschehen, so wächst die Kurzhyphe sehr rasch ins Innere des Tieres hinein. Aber nur ein Stück weit, denn dann bildet sich ein Haustorium, das aus verzweigten Schläuchen besteht und die Resorption des Tieres herbeiführt. Zuerst treten im gefangenen Tiere Öltröpfchen auf, die bald in *Brown*sche Bewegung geraten. Die resorbierte Nahrung wird zu vegetativem Wachstum der Langhyphen verwendet. In den Ästen des Haustoriums zeigt sich aber nur Plasma, wenn größere Rotatorien, z. B. *Salpina*, gefangen wurden. Plasmaströmung ist da nicht zu sehen. Diese durch die größeren Tierchen hindurch wachsenden Schläuche samt ihren Verzweigungen sind von dem vegetativen Myzel des Pilzes durch ihr doppelt so weites Lumen, durch Krümmung und Verästelung ganz verschieden. Es mag sich da um einen Fortpflanzungsvorgang vielleicht handeln. Eine Schwärmerbildung wurde nicht gesehen. Ein reiner Saprophyt ist der Pilz, der zu den *Phycomyceten* gestellt wird, sicher nicht, da er wie eine Alge in reinem Wasser lebt. Die langen Mycelstücke, die gänzlich frei von Tieren sind, zeigen an, daß die saprophytische Ernährung nicht ganz verloren gegangen ist. Verf. vergleicht seinen Pilz, der auch später in Bassins des botanischen Gartens zu Graz ge-

funden wurde, mit *Arthrobotrys oligospora* Zopf 1888 bezüglich der Lebensweise.

Die Studien werden fortgesetzt.

M a t o u s c h e k (Wien).

Blakeslee, A. F., Conjugation in the heterogamic Genus *Zygorhynchus*. (Mykol. Centralbl. Bd. 2. 1913. p. 241—244, Tab.)

Der Zweck der kleinen Arbeit ist, von *Zygorhynchus heterogamus* und *Moelleri* aufeinanderfolgende Stadien der Zygosporenbildung nach Zeichnungen am lebenden Objekt zu geben. Die Kultur befand sich in einer Glaskamera. Einzelne junge Stadien wurden bezeichnet und nun die sich ergebenden Zustände gezeichnet. Die Zeichnungen umfassen alle Stadien vom ersten Anfang bis zur Fertigbildung der Zygospore.

G. L i n d a u (Berlin).

Moreau, F., Sur la reproduction sexuée de *Zygorhynchus Moelleri* Vuill. (Compt. rend. Soc. Biol. Paris. T. 73. p. 14.)

Die beiden ungleichen Gametangien kopulieren nach gegenseitiger Aneinanderlegung und die Kerne gruppieren sich zu zweien, um dann zu verschmelzen. Gruber meint, daß das kleinere Gametangium ♀ sei, also daß hier zum ersten Male eine wirkliche geschlechtliche Differenzierung der Kopulationszweige stattfände. Doch ist der Verf. gegen diese Auffassung, da es sonst zu keiner scharfen Umgrenzung der Mucorineen käme, wenn Grubers Ansicht richtig wäre.

M a t o u s c h e k (Wien).

Großmann, H., The occurrence of *Zygorhynchus Moelleri* in Michigan. (13. Report of the Michigan Acad. of Science. 1911/12. p. 204—207.)

Die Pilzart wurde auch aus Erdproben in Michigan reingezüchtet. Die Kulturmedien waren folgende: 1. KH_2PO_4 , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, MgSO_4 , $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_5$ mit 2 Proz. Agar (oder 30 Proz. Gelatine) mit 1 l aqua destillata. 2. Beefextrakt und Gelatine. In beiden Fällen bildeten sich eine Unzahl von Zygosporen, doch nur eine beschränkte Zahl von Sporangien. An Hand von Abbildungen bespricht Verf. bis ins Detail die Bildung der Vermehrungsorgane.

M a t o u s c h e k (Wien).

Guéguen, Développement de l'appareil conidien et synonymie de l'*Hemispora stellata* Vuillemin. (Compt. rend. de la Soc. de Biol. Paris. T. 73. p. 32—34.)

Da in alten Kulturen dieses weit verbreiteten Pilzes eine Unterscheidung zwischen den Protokonidien und den Deuterokonidien nicht möglich ist, ist diese Pilzart von *Oospora* nicht mehr zu trennen. Es gehört wohl hierher auch *Torula epizoa* Corda.

M a t o u s c h e k (Wien).

Bechhold, H., Die Kolloide in Biologie und Medizin. XII + 441 pp. m. 52 Abb., mehr. Tabell. u. 2 Taf. Dresden (Th. Steinkopff) 1912. Preis M 14.—, geb. M 15.50.

Verf. hat sich die Aufgabe gestellt, die außerordentliche Bedeutung der Kolloidforschung für die Biologie und Medizin zu schildern, jenes jüngsten Zweiges der Naturforschung, von dem behauptet werden darf, daß er eben zur rechten Zeit emporwuchs, einen neuen Wegweisend, der uns vielleicht der Lösung des letzten Problems aller Biologie, des Problems vom Wesen des Lebensprozesses zu führen vermag, — zu einer Zeit gerade, wo einsichtige

Biologen erkannten, daß die bisherige Chemie unsere Erkenntnis in dieser Richtung zu vertiefen nicht imstande sein wird. Die Kolloidforschung erst hat die methodologische Grundforderung erfüllt: sie begann die chemischen und physikalischen Eigenschaften der organischen Materie unter möglichst natürlichen Bedingungen zu studieren, ohne sie, wie die Chemie (s. s.), erst tief eingreifenden, sie in ihrem Wesen zerstörenden Prozeduren zu unterwerfen.

Wie die Probleme der Biologie (im weitesten Sinne) im Lichte der Kolloidforschung sich darstellen, versucht nun der Verf. in einer, jedem wissenschaftlich, wenn auch nicht speziell chemisch geschulten Biologen (Mediziner, Zoologen und Botaniker) verständlichen Weise zusammenfassend vorzutragen. Dafür, ferner für die außerordentlich zu eigenem weiteren Mitarbeiten am Bau der jungen Wissenschaft anregende Behandlung der chemisch-physikalischen Grundlagen, für die eingehende, instruktive Einführung in die Arbeitsmethoden, für die sehr ausführlichen Literaturzitate kann die biologische Welt dem Verf. nicht dankbar genug sein. Sein Buch macht das Einarbeiten in die nun für uns so wichtige Materie leicht; es wird ein Pionier sein für die Verbreitung der kolloidchemischen Erkenntnisse, so daß zu hoffen steht, daß die unter den günstigsten Auspizien, im Institut des größten Biochemikers: P. Ehrlich's, — diesem und Th. Neubürger ist sie gewidmet, — entstandene Arbeit in ganz besonderem Maße die Befruchtung der biologischen Forschungen auf allen Gebieten mit kolloidchemischen Gesichtspunkten fördern und in diesem Sinne Epoche machen wird.

Verf. hat die Behandlung des Stoffes in vier Abschnitte geteilt: I. Einführung in die Kolloidforschung. In Kap. I—VII werden Wesen der Kolloide, das Problem der Grenzflächen, Teilchengröße, osmotischer Druck, Leitfähigkeit, Bewegungserscheinungen (Brown-Zsigmondy'sche Bewegung, Diffusion usw.), die Formbeständigkeit der Kolloide, ihre optischen und elektrischen Eigenschaften und endlich (sehr eingehend) die Methoden der Kolloidforschung abgehandelt.

Der II. Abschnitt ist der näheren systematischen Charakterisierung der Biokolloide: Kohlehydrate, Lipide, Eiweißkörper (Kap. VIII—X) und dann in Kap. XI—XIII der kolloidchemischen Betrachtung der Nahrungs- und Genußmittel, der Enzyme und der Immunitätsreaktionen gewidmet. Der III. Abschnitt gibt eine Darstellung des Organismus als kolloidales System und analysiert unter diesem Gesichtspunkte in Kap. XIV—XXI Stoffverteilung und Stoffwechsel (Wasserbewegung in Tier und Pflanze), Formbildung und Formveränderung, Wachstum und Entwicklung, die elementaren Differenzierungen der Zelle, — Protoplasma, Zellkern und Zellhaut, — die Bewegungen der Organismen, Blut, Atmung, Kreislauf, Resorption, Sekrete und Exkrete, die Nervenregung und endlich das Verhalten und die physiologische Bedeutung des Integumentes in kolloidchemischer Hinsicht.

Der IV. (letzte) Abschnitt würdigt wichtige Phänomene aus dem Gebiete der Toxikologie und Pharmakologie, ferner in sehr interessanter und anregender Weise die Rolle der kolloidchemischen Vorgänge in der mikroskopischen Technik (Mazeration und Isolation, Fixieren und Härten, Färben usw.).

Ein Autorregister mit kurzer Zitierung der betreffenden Publikationen sowie ein sorgfältig gearbeitetes Sachregister machen den Schluß.

Es sind in dieser Zeitschrift oft genug von den Mitarbeitern, sowohl bei der Behandlung gährungsphysiologischer und pflanzenpathologischer,

wie bei der Verfolgung landwirtschaftlich-technologischer Probleme, kolloid-chemische Ideen angeschnitten worden, für die nähere Erforschung der Prädisposition und der Stoffwechselstörungen in der Pflanze verspricht die junge Kolloidchemie uns in dem Maße wertvoll zu werden, daß es einer näheren Begründung der Besprechung des B e c h h o l d s c h e n Buches — die allerdings nur ganz kurz den Inhalt skizzieren konnte — nicht bedarf.

Ref. schließt daher mit einer warmen Empfehlung des Buches im Sinne der oben gemachten Ausführungen.

M. W o l f f (Bromberg-Schröttersdorf).

Henriques, V., u. Gialdback, J. K., Untersuchungen über die Plasteinbildung. II. Mitt. (Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 81. p. 438.)

In einer früheren Arbeit (diese Zeitschr. Bd. 71) haben Verff. mitgeteilt, daß zugleich mit der bei der Behandlung peptischer Spaltprodukte mit Pepsinsalzsäure im Thermostaten stattfindenden Plasteinbildung eine Abnahme des formoltitrierbaren Stickstoffs und eine Vermehrung des mit Gerbsäure fällbaren Stickstoffs vor sich geht.

Verff. haben nach ihrer alten Methode die konzentrierte Lösung des Eiweißspaltprodukts + Ferment im Verhältnis 1 : 20 mit ausgekochtem, destilliertem Wasser vermischt und diese Lösung direkt der Formoltitrierung unterzogen. Das Ammoniak wurde durch Destillation im Vakuum mit methylalkoholischem Baryumhydroxyd bestimmt. Es hat sich nun zunächst gezeigt, daß es sich bei der Wirkung der Pepsinsalzsäure auf Proteine und peptische Spaltungsprodukte um einen reversiblen Prozeß handelt, da man ihn je nach der Konzentration nach der einen oder anderen Richtung leiten kann. Bei starker Konzentration findet eine Plasteinsynthese statt, während bei starker Verdünnung der Prozeß wieder zurückgeht. Auch bei der Behandlung peptischer Spaltprodukte mit Trypsin findet eine typische Plasteinbildung statt. Hierbei spielen sich wahrscheinlich synthetische Prozesse und Proteolyse nebeneinander ab und es scheidet sich Trypsin aus. Das Ammoniak ist offenbar nicht an der Synthese beteiligt, da es dabei nicht abnimmt. Bei tryptischen Spaltprodukten ist dagegen die Spaltung schon zu weit fortgeschritten, um noch synthetische Prozesse zu gestatten. Hier ist nur die Proteolyse nachweisbar. Bei der Einwirkung von Pepsinsalzsäure und Trypsin auf Säurespaltungsprodukte findet ebenfalls eine Plasteinbildung statt. Alkalispaltungsprodukte dagegen zeigen nur bei Pepsinsalzsäurebehandlung eine Plasteinbildung, während Trypsin nur proteolytische Prozesse und Tyrosinausscheidung hervorruft.

S t r a u ß.

Ivanow, Sergius L., Die Eiweißreservestoffe als Ausgangsprodukt des Stoffwechsels in der Pflanze. (Beihefte zum Botanischen Centralblatt. Abt. I. XXIX. Heft 1. p. 144—158.)

Für die Spaltung der Polypeptide, welche Tyrosin enthalten, bildet der Saft der Pilze ein sehr ungeeignetes Beobachtungsobjekt, wahrscheinlich infolge der in ihm vorhandenen Fermente, die auf das Tyrosin einwirken (Tyrosinase!). — Die meisten Pflanzen der Frühlingsflora spalten die folgenden Dipeptide, mit denen experimentiert wurde, nicht: 1,88-proz. Lösung von d, l-Leucylglycin, d, l-Leucylalanin und Glycyl-l-Tyrosin und endlich 10-proz. Rohrzuckerlösung. Eine Ausnahme bilden die Zwiebeln und Pilze. Das negative Ergebnis berechtigt jedoch nicht zu dem Schlusse, daß den untersuchten Pflanzen peptolytische Fermente überhaupt fehlen. Auch

Pankreassaft ist (nach Abderhalden) gegenüber einer ganzen Zahl von Polypeptiden wirkungslos. — Die Invertase kann sich während des Winterschlafes der Pflanze in aktivem Zustande befinden.

Matouschek (Wien).

Palladin, W. u. Kraule, G., Zur Kenntniss der gegenseitigen Abhängigkeit zwischen Eiweißabbau und Atmung der Pflanzen. I. Über die Wirkung des Sauerstoffs der Luft und die Arbeit des proteolytischen Ferments in abgetöteten Pflanzen. (Biochem. Zeitschr. Bd. 39. p. 290.)

Nach den Versuchen der Verff. wird die Autolyse der Eiweißstoffe in abgetöteten Pflanzen, welche reich an Atmungschromogen sind, durch den Sauerstoff der Luft ungünstig beeinflusst; wenn Champignonhüte verwendet wurden, so zeigte sich die Autolyse in Wasserstoffatmosphäre 15 Proz., bei Verwendung von Champignonstielen 34 Proz., bei etiolierten Bohnenblättern 122 Proz. größer als in Luft. Wahrscheinlich findet eine gegenseitige Schädigung der verschiedenen Fermente statt. Emmerling (Hermisdorf).

Kayser, E., Influence des humates sur les microorganismes. (Compt. rend. hebdom. de l'Acad. d. scienc. Paris. T. 152. p. 1871—1873).

Der Zuckerumsatz durch die „ferments gras“ des Apfelweines wurde durch Humat-Zugabe meist deutlich gefördert. Ohne Einfluß blieb diese auf den Zuckerumsatz durch Apfelweinhefe. Auch bei Weinhefe war die Wirkung nur gering, während der Zuckerumsatz einer Milchsäurebakterie eine erhebliche Beschleunigung erfuhr. Ob Nähr- oder Reizwirkung vorliegt, bleibt unentschieden; bei den Apfelweinfermenten scheint es sich um Nährwirkung zu handeln.

Löhnis (Leipzig).

Michotte, F., L'agave. Culture et exploitation. (L'agricult. prat. d. Pays chauds. Année 13. 1913. p. 48, 130.)

L'auteur étudie la production du „pulque“, boisson fermentée mexicaine. Il décrit la préparation de la levure et la fermentation de la pulpe de l'Agave. Il indique les soins à prendre et règles à suivre pour produire ce liquide fermenté. M. donne les propriétés et des analyses du pulque et de l'eau de vie de l'agave (vin mezcal, Mexican Gin ou Brandy). La fabrication de cette eau de vie est aussi décrite. L'auteur estime que la production de l'alcool d'agave a un grand avenir, il entre dans des considérations économiques en faveur de cette culture, qui conviendrait très bien pour l'Algérie. Comme produit accessoire, il y a la production de fibre d'Agave, les résidus de fermentation peuvent servir d'engrais. Kufferath (Bruxelles).

Weigmann und Wolff, Weitere bakteriologische Untersuchungen aus der milchwirtschaftlichen Praxis. (Milchwirtsch. Zentralbl. 1912. H. 1, 3, 4 u. 5.)

Gleichwie in früheren Jahren, so haben für 1911 Verff. die Ergebnisse ihrer bakteriologischen Untersuchungen von fehlerhafter Milch und daraus erhaltenen fehlerhaften Erzeugnissen zusammengestellt. Aus dem reichen Material sei folgendes hervorgehoben: Auf einem Gute zeigte sich seit einigen Jahren, daß zur Zeit des Weideganges der Rahm nicht richtig sauer werden wollte, schlecht abbutterte und die Butterqualität minderwertig war. Dieser Übergang trat in der Regel mit dem Wechsel von Stall und Weide ein; daß

die Wiese viel Schachtelhalm (Kieselsäuregehalt) enthielt, sei noch bemerkt. Die eingesandte Probe war normal, ebenso Geschmack und Geruch; auffallend war aber, daß bei Zimmertemperatur (September) erst spät und nur schwache Säuerung eintrat. Die Untersuchung ergab das Fehlen von Säurebildnern, daß dagegen sehr viele Alkalibildner, gelbe Kokken und eine geringe Menge von peptonisierendem Schimmel vorhanden war. Ob die Anwesenheit großer Mengen des Kieselsäure enthaltenden Schachtelhalmes einen Einfluß auf die Bakterienflora der Weide hat, ist nicht angegeben.

In einer anderen Milch war ein sehr unangenehmer Bitterstoff vorhanden, welcher sich aus der Beschaffenheit des benutzten Futters nicht erklären ließ; ohne Gerinnen war dieselbe nicht kochbar. Hier wurde ein Stamm von *B. fluorescens* isoliert, welcher einen aufdringlichen Geruch nach *Daucus carota* hervorbringt. Auch in diesem Falle fehlten Milchsäurebildner, während Alkalibildner, *Coli Aërogenes* und sporenbildende Erdbakterien in geringer Menge auch hier wieder nachweisbar sind. — Aufsehen erregte eine nach tierischen Eingeweiden riechende Milch, die sich nicht buttern ließ und auffallend süß schmeckte, hier fand sich ein die Milch alkalisch machendes Kurzstäbchen, welches durch seine große Menge die Säurebildner überwucherte. Es schien, daß in diesem Falle das ermittelte Kurzstäbchen in Verbindung mit *B. fluorescens* den unangenehmen tierischen Geschmack und Geruch hervorbringt. In einem zweiten Falle, wo die Milch gleichfalls nach tierischen Eingeweiden roch, wurden auch wieder Kurzstäbchen, die auf dem Nährboden hübsche, gänseblumenartige Kolonien hervorriefen, Alkalibildner, „*Bacterium Zopfii*“, gelbe Kokken verflüssigende Stäbchen und Colibakterien ermittelt. Beide ergaben in Reinkultur sterilisierter Milch zugesetzt, einerseits ein süßliches Aroma, andererseits einen scharfen, ranzig-sauren Geruch und Geschmack. Den bitteren Geschmack erzeugte nachgewiesenermaßen *Proteus*. Es ergab ferner die gemeinsame Einsaat der isolierten Arten je nach den schwankenden Mengen der Zusätze auch wechselnde Gerucherscheinung. — Bei diesen Untersuchungen konnten Verff. auch den großen Einfluß des den Kühen zur Unterlage dienenden Streumaterials auf die Flora der Milch ermitteln; aus den Mitteilungen ergibt sich, daß im Sommer beim Weidegang die Milch recht häufig mit denjenigen Fehlern behaftet ist, die sich aus dem Mangel an Milchsäurebakterien und der Gegenwart großer Mengen peptonisierender und alkalische Reaktion verursachende Bakterien ergeben. — Des öfteren fand sich Milch mit ranzigem oder salzigem Fett; hier wurde meist eine eigenartige Deformation der Fettkügelchen festgestellt. — Eine sehr interessante Beobachtung ergab sich auf einem Besitze, wo Kühe von zwei verschiedenen Rassen mit gleichem Futter gefüttert ganz ungleich schmeckende Milch lieferten. Diese verschiedenen Milchen wurden längere Zeit genau untersucht, viele Bakterienarten (p. 66—68) isoliert und hiervon wieder Einsaaten in sterilisierte Milch gemacht, welche die verschiedene Einwirkung einer und derselben Bakterienart auf die Milch, insbesondere bezüglich des Geschmackes und Geruchs ergaben. Genauer wurden die Stämme *Aërogenes* geprüft, von denen der eine der Milch einen kräftig-sauren, der zweite einen aromatisch-sauren und der dritte einen schokolade- oder kuchenartigen Geschmack ergab. Alle drei Stämme vergären kräftig und erzeugen einen stallartig-jauchigen Geruch und Geschmack, welcher sich in 8—10 Tagen immer weiter steigert; ein anderer Stamm roch und schmeckte faulig-bitter.

Auf p. 97—100 finden sich eingehende Untersuchungen über die Milchen von 63 Kühen aus einem Stalle, welche alle bald nach Ablieferung zu frühzeitig geronnen sind und fast alle eine etwas gelbliche Farbe zeigten. Die meisten Proben enthielten vorherrschend *B. mycoides*, *B. megatherium*, einen verflüssigenden, gelblichen Kokkus, ein dem *Pseudomonas trifolii* ähnliches Stäbchen und nur wenige *Aërogenes*-Bakterien. Die Milchsäurebakterien waren in mehr oder minder schwankenden Mengen vorhanden. Die ermittelte Anwesenheit recht bedeutender Mengen von Lab und Casease ausscheidenden Bakterien, welche bei einigen Proben noch nach dem Gerinnen, bei den anderen aber sicher im Anfang eine so große war, daß die Milchsäurebakterien im Verhältnis dazu verschwinden, mußten infolge der produzierten Labmenge zur frühzeitigen Gerinnung der Milch führen. Die angestellten Untersuchungen ergaben, daß von den drei Casease-Bakterienarten namentlich *B. mycoides* viel Lab ausscheidet und am raschesten und in größter Menge Bodensatz niederschlägt. Auch *B. fluorescens* scheidet viel Lab aus und zwar bei niedriger Temperatur scheinbar mehr als bei höherer. Ferner ergab sich, daß je nach Vorherrschen von *B. mycoides* oder *B. megatherium* eine Beeinflussung der Gerinnungsart statt hat, die dann mehr minder fein oder grobflockig war. Interessant ist auch die Konstatierung, daß *B. fluorescens*, welcher für sich allein einen unangenehm esterigen Geruch verursacht, mit *B. mycoides* ebenso wie mit *Streptococcus lacticus* ein angenehmes Aroma und mit *B. megather.*, *B. mycoides* und Milchsäurebakterien ein käsiges Aroma bildet. Bewiesen wurde auch bei den Untersuchungen, daß *B. mycoides* sich dem *B. megatherium* gegenüber durch Ausscheidung einer größeren Labmenge im Verhältnisse zur Casease auszeichnet. *B. mycoides* dürfte also wohl zu denjenigen Bakterien gehören, welche sowohl ein frühzeitiges wie auch ein käsiges Gerinnen verursachen, in kaum geringerem Maße ist das wohl bei dem in Milch wie überhaupt in der freien Natur noch viel häufiger vorkommenden *B. fluorescens* der Fall. — Verff. hatten Gelegenheit, noch eine weitere, ganz ähnliche Untersuchung auszuführen, bei welcher sich das Verhalten von kräftig peptonisierender Bakterien zu Milchsäurebakterien, diesmal nicht nur *Streptococcus lactic.*, sondern auch Milchsäurelangstäbchen zeigte. Hierbei war die peptonisierende Bakterie ebenfalls ein Sporenbildner, welcher seinen kulturellen Merkmalen nach dem nicht sporenbildenden *Proteus* sehr ähnelt; sehr interessante Einzelheiten sind auf S. 129—130 einzusehen. Alle derartigen Milchproben besaßen einen angenehmen, fleischextraktähnlichen Geruch und Geschmack, der aber auch schwach käsig ist und bei Anwesenheit von Milchsäurelangstäbchen sich noch steigert, während Milchsäurestreptokokken den Geschmack etwas saurer gestalten und den Fleischextraktgeschmack zurückdrängen. Nach den Erfahrungen der Verff. scheint ein frühzeitiges Gerinnen der Milch dann einzutreten, wenn die Casease-Bakterienarten besonders viel Lab ausscheiden und die Milchsäurestreptokokken in nicht zu geringer Menge anwesend sind.

Auch Milch in Dosen kam, jedoch meist in verdorbenem Zustande, zur Untersuchung, wobei sich die schon früher gemachte Beobachtung, daß der veränderte Klang der Dosen ein Zeichen des Verderbens sei, bestätigte. Die bakteriologische Untersuchung ergab, daß nicht mangelhafte Sterilisation, sondern Undichtigkeit der Lötung schuld daran sei; man fand Milch-

die Wiese viel Schachtelhalm (Kieselsäuregehalt) enthielt, sei noch bemerkt. Die eingesandte Probe war normal, ebenso Geschmack und Geruch; auffallend war aber, daß bei Zimmertemperatur (September) erst spät und nur schwache Säuerung eintrat. Die Untersuchung ergab das Fehlen von Säurebildnern, daß dagegen sehr viele Alkalibildner, gelbe Kokken und eine geringe Menge von peptonisierendem Schimmel vorhanden war. Ob die Anwesenheit großer Mengen des Kieselsäure enthaltenden Schachtelhalmes einen Einfluß auf die Bakterienflora der Weide hat, ist nicht angegeben.

In einer anderen Milch war ein sehr unangenehmer Bitterstoff vorhanden, welcher sich aus der Beschaffenheit des benutzten Futters nicht erklären ließ; ohne Gerinnen war dieselbe nicht kochbar. Hier wurde ein Stamm von *B. fluorescens* isoliert, welcher einen aufdringlichen Geruch nach *Daucus carota* hervorbringt. Auch in diesem Falle fehlten Milchsäurebildner, während Alkalibildner, *Coli Aërogenes* und sporenbildende Erdbakterien in geringer Menge auch hier wieder nachweisbar sind. — Aufsehen erregte eine nach tierischen Eingeweiden riechende Milch, die sich nicht buttern ließ und auffallend süß schmeckte, hier fand sich ein die Milch alkalisch machendes Kurzstäbchen, welches durch seine große Menge die Säurebildner überwucherte. Es schien, daß in diesem Falle das ermittelte Kurzstäbchen in Verbindung mit *B. fluorescens* den unangenehmen tierischen Geschmack und Geruch hervorbringt. In einem zweiten Falle, wo die Milch gleichfalls nach tierischen Eingeweiden roch, wurden auch wieder Kurzstäbchen, die auf dem Nährboden hübsche, gänseblumenartige Kolonien hervorriefen, Alkalibildner, „*Bacterium Zopfii*“, gelbe Kokken verflüssigende Stäbchen und Colibakterien ermittelt. Beide ergaben in Reinkultur sterilisierter Milch zugesetzt, einerseits ein süßliches Aroma, anderseits einen scharfen, ranzig-sauren Geruch und Geschmack. Den bitteren Geschmack erzeugte nachgewiesenermaßen *Proteus*. Es ergab ferner die gemeinsame Einsaat der isolierten Arten je nach den schwankenden Mengen der Zusätze auch wechselnde Gerucherscheinung. — Bei diesen Untersuchungen konnten Verff. auch den großen Einfluß des den Kühen zur Unterlage dienenden Streumaterials auf die Flora der Milch ermitteln; aus den Mitteilungen ergibt sich, daß im Sommer beim Weidegang die Milch recht häufig mit denjenigen Fehlern behaftet ist, die sich aus dem Mangel an Milchsäurebakterien und der Gegenwart großer Mengen peptonisierender und alkalische Reaktion verursachende Bakterien ergeben. — Des öfteren fand sich Milch mit ranzigem oder salzigem Fett; hier wurde meist eine eigenartige Deformation der Fettkügelchen festgestellt. — Eine sehr interessante Beobachtung ergab sich auf einem Besitze, wo Kühe von zwei verschiedenen Rassen mit gleichem Futter gefüttert ganz ungleich schmeckende Milch lieferten. Diese verschiedenen Milchen wurden längere Zeit genau untersucht, viele Bakterienarten (p. 66—68) isoliert und hiervon wieder Einsaaten in sterilisierte Milch gemacht, welche die verschiedene Einwirkung einer und derselben Bakterienart auf die Milch, insbesondere bezüglich des Geschmackes und Geruchs ergaben. Genauer wurden die Stämme *Aërogenes* geprüft, von denen der eine der Milch einen kräftig-sauren, der zweite einen aromatisch-sauren und der dritte einen schokolade- oder kuchenartigen Geschmack ergab. Alle drei Stämme vergären kräftig und erzeugen einen stallartig-jauchigen Geruch und Geschmack, welcher sich in 8—10 Tagen immer weiter steigert; ein anderer Stamm roch und schmeckte faulig-bitter.

Auf p. 97—100 finden sich eingehende Untersuchungen über die Milchen von 63 Kühen aus einem Stalle, welche alle bald nach Ablieferung zu frühzeitig geronnen sind und fast alle eine etwas gelbliche Farbe zeigten. Die meisten Proben enthielten vorherrschend *B. mycoides*, *B. megatherium*, einen verflüssigenden, gelblichen Kokkus, ein dem *Pseudomonas trifolii* ähnliches Stäbchen und nur wenige *Aërogenes*-Bakterien. Die Milchsäurebakterien waren in mehr oder minder schwankenden Mengen vorhanden. Die ermittelte Anwesenheit recht bedeutender Mengen von Lab und Casease ausscheidenden Bakterien, welche bei einigen Proben noch nach dem Gerinnen, bei den anderen aber sicher im Anfang eine so große war, daß die Milchsäurebakterien im Verhältnis dazu verschwinden, mußten infolge der produzierten Labmenge zur frühzeitigen Gerinnung der Milch führen. Die angestellten Untersuchungen ergaben, daß von den drei Casease-Bakterienarten namentlich *B. mycoides* viel Lab ausscheidet und am raschesten und in größter Menge Bodensatz niederschlägt. Auch *B. fluorescens* scheidet viel Lab aus und zwar bei niedrigerer Temperatur scheinbar mehr als bei höherer. Ferner ergab sich, daß je nach Vorherrschen von *B. mycoides* oder *B. megatherium* eine Beeinflussung der Gerinnungsart statt hat, die dann mehr minder fein oder grobflockig war. Interessant ist auch die Konstatierung, daß *B. fluorescens*, welcher für sich allein einen unangenehm esterigen Geruch verursacht, mit *B. mycoides* ebenso wie mit *Streptococcus lacticus* ein angenehmes Aroma und mit *B. megather.*, *B. mycoides* und Milchsäurebakterien ein käsiges Aroma bildet. Bewiesen wurde auch bei den Untersuchungen, daß *B. mycoides* sich dem *B. megatherium* gegenüber durch Ausscheidung einer größeren Labmenge im Verhältnisse zur Casease auszeichnet. *B. mycoides* dürfte also wohl zu denjenigen Bakterien gehören, welche sowohl ein frühzeitiges wie auch ein käsiges Gerinnen verursachen, in kaum geringerem Maße ist das wohl bei dem in Milch wie überhaupt in der freien Natur noch viel häufiger vorkommenden *B. fluorescens* der Fall. — Verff. hatten Gelegenheit, noch eine weitere, ganz ähnliche Untersuchung auszuführen, bei welcher sich das Verhalten von kräftig peptonisierenden Bakterien zu Milchsäurebakterien, diesmal nicht nur *Streptococcus lactic.*, sondern auch Milchsäurelangstäbchen zeigte. Hierbei war die peptonisierende Bakterie ebenfalls ein Sporenbildner, welcher seinen kulturellen Merkmalen nach dem nicht sporenbildenden *Proteus* sehr ähnelt; sehr interessante Einzelheiten sind auf S. 129—130 einzusehen. Alle derartigen Milchproben besaßen einen angenehmen, fleischextraktähnlichen Geruch und Geschmack, der aber auch schwach käsig ist und bei Anwesenheit von Milchsäurelangstäbchen sich noch steigert, während Milchsäurestreptokokken den Geschmack etwas saurer gestalten und den Fleischextraktgeschmack zurückdrängen. Nach den Erfahrungen der Verff. scheint ein frühzeitiges Gerinnen der Milch dann einzutreten, wenn die Casease-Bakterienarten besonders viel Lab ausscheiden und die Milchsäurestreptokokken in nicht zu geringer Menge anwesend sind.

Auch Milch in Dosen kam, jedoch meist in verdorbenem Zustande, zur Untersuchung, wobei sich die schon früher gemachte Beobachtung, daß der veränderte Klang der Dosen ein Zeichen des Verderbens sei, bestätigte. Die bakteriologische Untersuchung ergab, daß nicht mangelhafte Sterilisation, sondern Undichtigkeit der Lötung schuld daran sei; man fand Milch-

säurebakterien, Coli- und Aërogenes und Kokken. Eine schwierige Untersuchung rief eine Milch hervor, welche nach dem Sterilisieren nachdickte, fast gallertartig wurde und rotbraune Stellen bekam, die sich meist da zeigten, wo die Naht der Dose war. Hier war das Lötwasser die Ursache der Bräunung, dessen Gehalt an Kolophonium den Übelstand herbeiführte, und da sich bei genannter Untersuchung zeigte, daß an diesen Stellen die Milch auch wesentlich dicker war, so wurde solches gleichfalls damit in Verbindung gebracht. Vollständig geklärt ist diese Erscheinung aber noch nicht. „Ölige“ Butter scheint, soweit es sich um Reifung in der Rahmtonne handelt, durch Zusammenwirken von Hefen, Oidien, Coli-Aërogenes und peptonisierenden Bakterien, überhaupt bei einer artenreichen Flora zustande zu kommen; auch Cladosporien fanden die Verf. Butterproben mit rötlichen und grünlichen bis grünlich-gelben Flecken ergaben als Ursache einmal einen rostroten Farbstoff bildendes peptonisierendes Oidium und einmal einen roten Schimmelpilz, während die grünen Flecke teils von einem grünlich-bläulichen Oidium in Gemeinschaft mit gelben und rötlich-gelben Kokken herrührten.

Den Schluß dieser 1911er Untersuchungszusammenstellung bildet ein Artikel über fehlerhaften Käse. — In einem Falle waren reifende gelbliche und unreife weiße Stellen sichtbar, die dem Käse ein marmoriertes Aussehen gaben, zu bemerken; es fanden sich an den gelblichen Stellen etwa 80 Proz. Milchsäurebakterien, außerdem aber in der Hauptsache die stark gasbildenden Aërogenes-Bakterien und die Hefen, daneben ein auffallend stark lichtbrechendes Kurzstäbchen. Die weißen und die unreifen Stellen waren dagegen sehr Keimarm und enthielten nur wenige Milchsäurebakterien, einen gelblichen peptonisierenden Coccus und das bei den reifen Stellen erwähnte lichtbrechende Kurzstäbchen, sowie Sarcinen, dagegen keine Hefen und keine Aërogenes-Bakterien. Bei einem Stangenkäse zeigten sich runzelig-mehlig bestaubte Hautfalten, die durch eine Oidium-Art hervorgerufen werden; auf den meisten Nährböden erzeugte die abgeimpfte Art stark bestaubte Kolonien.

Die von den Verff. mitgeteilten bakteriologischen Jahreszusammenstellungen werden sicherlich von den Kreisen der Milchinteressenten stets mit großer Anerkennung begrüßt werden. R u l l m a n n (Darmstadt).

Poppe, K., Über die Frage der Ubiquität der Paratyphusbazillen in Nahrungsmitteln. (Arch. f. Hyg. Bd. 80. 1913. p. 216—227.)

Der obigem Thema gewidmeten Arbeit sei nur das für das Vorkommen von Paratyphusbazillen in Milch ermittelte Material entnommen. Aus einer Zusammenstellung über die festgestellten Prozentzahlen der positiven Befunde in einzelnen Nahrungsmitteln ergibt sich, daß in Milch durchschnittlich 9,4 Proz. Paratyphusbazillen nachgewiesen wurden. Die von Klein erhaltene verhältnismäßig große Zahl der positiven Befunde ist deshalb nicht vollkommen eindeutig, weil derselbe in etwa 25 Proz. (10 von 39 Proben) dadurch zu dem Ergebnisse gelangte, daß er Zentrifugate von Londoner Handelsmilch zwecks Prüfung auf Tuberkelbazillen Meerschweinchen injizierte und aus den nekrotischen Herden in der Milz der Versuchstiere den *Bacillus enteriditis* Gärtner züchtete. Da gerade diese Tiere spontan an pseudotuberkulösen Veränderungen, die durch Paratyphusbazillen verursacht sind, erkranken können, so ist bei Verimpfung von derartigem Material nicht zu entscheiden, ob die Versuchstiere nicht schon vor-

her mit Paratyphusbazillen infiziert waren. Gegen ein so häufiges Vorkommen sprechen Titze und Weichel, welche durch Kulturverfahren niemals, Uhlenhuth und Hübner, die bei einer Versuchsreihe nur in einer und in einer anderen allerdings in 10 Proz. der untersuchten Milchproben positive Befunde erhielten.

Unter Berücksichtigung der bei Untersuchung der übrigen Nahrungsmittel erzielten Ergebnisse und der Epidemiologie des Paratyphus muß unbedingt daran festgehalten werden, daß die Paratyphusbazillen eine so erhebliche Verbreitung in der Außenwelt als Saprophyten nicht zukommt, um von einer Ubiquität sprechen zu können. Es sind bei Anwendung einwandfreier Nachweismethoden die Paratyphusbazillen in unverdorbenen Wurst- und Fleischwaren nicht in so großer Zahl nachgewiesen worden, wie man bis vor einiger Zeit annahm. — Dann ist noch eine wichtige Frage, ob die in einwandfreien Nahrungsmitteln gefundenen Bakterien der Paratyphusgruppe für Menschen pathogene Eigenschaften besitzen; die Beantwortung dieser Frage hängt mit der Vielseitigkeit der Pathogenität der einzelnen Glieder der Paratyphusgruppe auf das engste zusammen. Gegen die Annahme, daß die in unverdorbenen Nahrungsmitteln gefundenen Paratyphusbazillen menschenpathogen wirken können, spricht auch, daß derartige Nahrungsmittel bisher zu einer Erkrankung bei Menschen in keinem Falle Veranlassung gaben, wodurch ein weiterer Beweis erbracht wird, daß von einem ubiquitären Vorkommen menschenpathogener Paratyphusbazillen nicht die Rede sein kann. Rullmann (München).

Kooper, W. D., Sind Alkalität und „Peroxydase“ der Milch identische Begriffe? (Zeitschr. f. Unters. d. Nahr.-u. Genußmittel. Bd. 23. p. 1—13.)

Entgegen Grimmer¹⁾ Hinweisen kommt Verf. auf Grund einiger weiterer Versuche mit Rothenfußers Reagens erneut zu einer (nach Ansicht des Referenten nicht gerechtfertigten) bejahenden Beantwortung der in der Überschrift aufgeworfenen Frage. Die (natürlich ebenfalls schwankende) Alkalität der Milch wird diskutiert; merkwürdigerweise ergab sich ein annähernder Parallelismus zwischen ihr und dem spezifischen Gewicht der Milch. Löhnis (Leipzig).

Forcart, M. K., Larosan als Ersatz für Eiweißmilch. (Münchener med. Wchschr. 1913. p. 1199.)

Bei der vor Jahren von Finkelstein und Meyer eingeführten Eiweißmilch wird die Erfahrung verwertet, daß der in der Molke enthaltene Milchzucker durch seine Säurebildung den Anstoß zu diarrhöischen Ernährungsstörungen gibt, das Kasein dagegen, welches säurehemmend wirkt, die Gärung verhindert und dadurch einen günstigen Einfluß auf den Darm ausübt. — Da die Herstellung dieses vorzüglichen Mittels im Privathause sehr schwierig ist, so hat sich als Ersatz hierfür das von Stöltzner eingeführte Larosan als zweckmäßig erwiesen; Stöltzner schreibt die günstige Einwirkung der Eiweißmilch zumeist dem hohen Eiweiß- und Kalkgehalt zu und stellte deshalb Kaseincalcium her, um es in verdünnter Milch aufzulösen. Man gewinnt es durch Zusatz von Essigsäure zu verdünnter Magermilch, filtriert das ausfallende Gerinnsel ab und löst es in Wasser

¹⁾ Grimmer, Milchw. Zentralbl. Bd. 7. 1911. p. 395—402; ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 32. p. 250.

+ KHO wieder auf, fällt nochmals mit Essigsäure, löst dann in Wasser, welchem auf Kasein berechnet, 2,5 Proz. Calciumoxydhydrat zugesetzt war, auf. Man ist nach endlich gelungenen Versuchen der richtigen Darstellung eines pulverförmigen Kaseincalciums jetzt in der Lage, leicht diese Larosanlösung darzustellen, über deren gute Erfolge im Original berichtet wird. Es ist hieraus ersichtlich, daß diese Milchmischung auf den Darm eine der Eiweißmilch ähnliche Wirkung ausübt. R u l l m a n n (München).

Nierenstein, M., Contributions to the Chemistry of Cheddar Cheese. (Journ. Agric. Science. Vol. 4. p. 225—244.)

Bisher wurden nur die im Emmentaler sowie im amerikanischen Cheddarkäse während der Reife vor sich gehenden Änderungen etwas eingehender erforscht. Verf. beschäftigte sich mit den Stickstoffumsetzungen im englischen Cheddarkäse, dessen Verhalten sich besonders in den späteren Reifungsstadien abwechselnd gestaltet.

Wie im Emmentaler fanden sich auch im englischen Cheddarkäse Kaseoglutin und Tyrokasein. Von Aminosäuren wurden (aus einem 4 Jahre alten Käse) isoliert: Glyzin, Alanin, Valin, Leucin, Isoleucin, Phenylalanin, Tyrosin, Serin, Glutaminsäure, Tryptophan, Lysin, Aminobuttersäure, Aminovaleriansäure. Arginin und Polypeptide wurden vergeblich gesucht. Putrescin, Cadaverin, wahrscheinlich auch Briegers Diamin waren nachweisbar. — Über die Produkte der einzelnen Reifungsfaktoren (Enzyme, Bakterien usw.) soll später berichtet werden. L ö h n i s (Leipzig).

Kolkwitz, R., Die Beziehungen des Kleinplanktons zum Chemismus der Gewässer. (Mitteil. a. d. kgl. Prüfungsanst. f. Wasserversorg. u. Abwässerbeseitig. in Berlin. Heft 14. p. 145—215.)

Die gründlichste Beantwortung der Frage, inwieweit das Kleinplankton ob der weiten Verbreitung in den Chemismus der Wässer eingreift und zwar in der Region des freien Wassers. Unter Kleinplankton versteht der Verf. nur die Vertreter der Spalt-, Gelb-, Kiesel- und Grünalgen, ferner die Wimper- und Geißelinfusorien. Vor allem war es nötig, die Methoden der Planktologie denen der Bakteriologie ähnlich zu gestalten. Dies gilt besonders bezüglich des Schöpfens der Proben, deren Auszählung und Einsetzung einer Einheit für den Kubikzentimeter. Dabei kam zum Vorschein, daß oft mehr Algen als Bakterien pro Kubikzentimeter Wasser in diesem vorkommen. Unter den 200 Proben befanden sich außer Süßwasser aus diversen größeren Flüssen Deutschlands auch solche aus der Nord- und Ostsee und aus Binnenseen Oberitaliens und der Schweiz. Die gefundenen Organismen werden nach der ökologischen Seite gründlich studiert. — Verf. unterscheidet (mit M a r s s o n) polysaprobe, mesosaprobe α und β , und oligosaprobe Planktonorganismen. Zu den ersteren gehören solche, welche in Regionen mit Abwässern die Rolle von Entfäulern spielen und dabei von den α -mesosaprobe Organismen unterstützt werden. Sie leben von Peptonen und ähnlichen Stoffen. Zu den α -mesosaprobe gehören jene, die namentlich in den Zonen lebhafter Selbstreinigung sehr gut gedeihen, namentlich auf Kosten der Aminosäuren und Ammoniakverbindungen der Fettsäuren. Zu den α -mesosaprobe muß man jene rechnen, die in Wässern gedeihen, welche gereinigten Drainwässern recht ähnlich sind. Oligosaprobe Wesen leben in reinem Wasser. — Diese Organismen insgesamt nennt Verf. das E u p l a n k t o n, zum Unterschiede

vom Pseudoplankton, das heterogene Bestandteil enthält z. B. Sandkörner, Detritus, Zellulosefasern usw. — Das Literaturverzeichnis ist recht brauchbar. Matouschek (Wien).

Butler, E. J., On *Allomyces*, a new aquatic Fungus. (Annals of Botany. Vol. 25. p. 1023—1034, w. 1 tabl.)

Der vom Verf. beobachtete neue Wasserpilz (*Allomyces arbusculanus* g. n. sp.) ist mit *Blastocladia* verwandt und beide bilden mit *Gonapodya* eine Formengruppe, welche sich auszeichnet durch den Mangel von Zellulose in der Zellmembran und durch Zoosporen mit 1 Cilie, ferner durch den septierten Thallus. Die Dauersporen von *Allomyces* und auch *Blastocladia* sind parthenogenetisch entwickelte Oosporen vom *Monoblepharis*-Typus. Die genannte Formengruppe gehört zu den Leptomitaceen, welche letztere sich vielleicht durch Formen, welche *Monoblepharis* ähnlich sind, von den Siphoneen ableiten. Die Leptomitaceen wären also eine ältere Gruppe als die Saprolegniaceen und als *Pythium*. Matouschek (Wien).

Kolkwitz, R., Zur Lebensgeschichte von *Sphaerotilus natans*. (Zeitschr. d. Ver. d. Deutsch. Zuckerind. Bd. 62. 1912. p. 1107.)

Die Gattung *Sphaerotilus* geht in älteren Gutachten über Gewässerverunreinigungen vielfach irrtümlich unter den Namen *Beggiatoa* und *Leptomitus*. Der Pilz, der bezüglich der Nährstoffe polysaprob und α -mesosaprob ist, wird beschrieben und abgebildet. Er entwickelt sich am besten an Faschinen, Holzbohlen, Schilfstengeln, Blättern u. dgl., während er an sandigen Ufern keine Befestigungspunkte findet. An Steinen scheint er nur bei guter Ernährung festen Fuß fassen zu können. Wenn er sich losreißt und sich an Stellen mit schwacher Strömung aufhäuft, kann er zu sekundären Verunreinigungen und Geruchsbelästigungen Anlaß geben, während er sonst für die Selbstreinigung — besonders in kleineren Wasserläufen — nützlich ist. *Sphaerotilus* ist in Deutschland der häufigste Abwasserpilz und durch seine üppige Entwicklung, die nicht selten Mißstände mit sich bringt, oft sehr lästig. Außerhalb Deutschland findet er sich z. B. auch an verschmutzten Uferstellen im Genfer See und an Ufermauern im Vierwaldstätter See bei Luzern. Im Gebirge fand ihn Verf. im Zellbach bei Zellerfeld-Klausthal im Harz. Er ist in zahlreichen Vorflutern, die Abwässer aus Städten, Zellulosefabriken, Zuckerfabriken und anderen landwirtschaftlichen Betrieben aufnehmen, anzutreffen. Der Pilz wurde zuerst von Kützing in der Elbe bei Magdeburg im Jahre 1833 gefunden. Die Elbe ist gegenwärtig ein *Sphaerotilus*-Strom, da nur dieser Pilz (nicht *Leptomitus*, *Mucor* oder *Fusarium*) in ihm zu größerer Entwicklung gelangt. Die Verbreitung wird überall durch die chemische Beschaffenheit des Wassers bestimmt. Es ist nicht ausgeschlossen, daß *Spirosoma gregarium* Mig., Syn. *Myconostoc gregarium* Cohn in den Formenkreis von *Sphaerotilus* gehört. Weiter beschreibt Verf. *Sphaerotilus fluitans* Schikora und *S. roseus* Zopf. Die Rasen des ersten Pilzes haften fest auf Steinen und Holzwerk in bewegtem Wasser; er bildet vliesartige Überzüge von bisweilen ziegelroter Farbe, auch mit Eisenoxydhydratablagerungen durchsetzt und ist vielleicht identisch mit der zuerst hervorgehobenen Spezies oder mit *S. roseus*. Dieser Pilz bildet schleimige, mohrrübenrot gefärbte, auch etwas

ins Rosenrot und ins Karmin spielende Pilzmassen, die in Flüssen, die organische, ernährende Abwässer aufnehmen, oft große Uferstrecken färben. Zopf und Verf. fanden ihn auf *Leptomit* sitzend, doch kommt er auch ohne diesen z. B. an Uferbohlen und Faschinen vor. Er enthält Eukarotin. Verf. schrieb in seiner Arbeit über den Rhein, daß hinter größeren Besiedelungszentren die Menge der absiebbaren Schwebestoffe im Wasser ansteigt, um dann meist allmählich wieder abzusinken. Es findet somit eine Summierung der eingeschwemmten Stoffe, wie man eigentlich erwarten sollte, nicht statt. Diese durch besondere Untersuchungen festgestellte Selbstreinigung dürfte sich hauptsächlich durch die Freßtätigkeit der Rädertiere, Kleinkrebschen, Insektenlarven und Fische erklären, während das pflanzliche Kleinplankton dem sonst üppiger sich entwickelnden *Sphaerotilus natans* die gelöste organische Nahrung entzieht. Hier läge also ein Fall vor, wo die Nahrungskonkurrenten das üppige Aufkommen von *Sphaerotilus* verhindern. Stift (Wien).

Müntz, A., et Gaudechon, H., *Le reveil de terre*. (Compt. rend. hebdomadaire de l'Ac. Paris. T. 154. p. 163—168.)

Das Wiedererwachen der Bodentätigkeit im Frühjahr, das die französischen Landwirte bezeichnen als: „la terre est en travail“, „la terre est en amour“ oder „la terre est amoureuse“ gab den Verff. Veranlassung, den Verlauf der Nitrifikationskurve während der Frühjahrsmonate genauer zu studieren. Erde und Kompost wurden nach erfolgter Sterilisation aller 14 Tage mit kleinen Erdmengen geimpft und in gleichen Abständen 2½ Monate hindurch die gebildeten Salpetermengen bestimmt. Zum Teil wurde das benutzte Impfmateriel dauernd bei 20° C (im Eisschrank) aufbewahrt. Die Versuchsgefäße standen bei 23—26° C. Der rapide Anstieg der Nitrifikation im März trat ebenso deutlich in die Erscheinung wie der nachfolgende Abfall im Mai. Der Höhepunkt wurde zwischen 28. III. und 25. IV. erreicht. Der hieraus gezogene Schluß: „le reveil de terre se trouve ainsi expliqué“ entbehrt indessen nach Ansicht des Ref. der zureichenden Begründung; das analoge Anwachsen anderer Umsetzungen ist gleichfalls in Rechnung zu ziehen. Ebenso hätten die bereits in größerer Zahl vorliegenden einschlägigen Beobachtungen Berücksichtigung verdient; die Tatsache selbst ist nicht so unbekannt, wie die Verff. annahmen.

Löhnis (Leipzig).

Doß, B., Entstehung der ökonomisch wichtigsten Schwefelkieslagerstätten. (Korrespondenzbl. d. Naturforsch.-Ver. z. Riga. Sitzungsber. Bd. 55. p. 23—24.)

Verf. hat Untersuchungen über die Entstehung von Schwefelkies aus kolloidem Eisensulfidhydrat innerhalb der Tertiärzone des Gouv. Ssamara angestellt. Sie zeigten, daß man es mit Ablagerungsprozessen in Meeresbuchten oder in Binnenseen unter Mitwirkung von Mikroorganismen zu tun hat (Heilschlamm an der Küste Ösels oder bei Hapsal, südrussische Limane, sibirische Steppensalzseen, Seen um Riga). Aus dem fe-schüssigen Wasser solcher Becken wurde teils durch Eisenbakterien zunächst Eisenoxydhydrat niedergeschlagen, das dann in Eisensulfidhydrat übergeführt wird, teils schied sich letzteres direkt aus. Der zur Bildung des Sulfidhydrats nötige H₂S wurde von einer gewissen Bakteriengruppe geliefert. Aus dem Eisensulfidhydrat ging unter Wasserabspaltung und Addierung von freiem S — geliefert durch absterbende Schwefelbakterien — Eisenbisulfid hervor,

zunächst in einer labilen vom Verf. entdeckten neuen Mineralform, dem Melnikowit, der später in die stabile Form des Schwefelkieses übergang. Verf. fand auch die Eisenbakterie *Gallionella ferroginea* im fossilen Zustande im Melnikowit der Tone obengenannter Formation und andererseits Purpurbakterien im Fe-haltigen Schlamme der Insel Ösel. — Den Schwefelwasserstoff in den Torfgewässern führt Verf. nicht auf Bakterien, sondern auf die Zersetzung von fein verteiltem Schwefelkies zurück. Ob Bakterien bei der Bildung des Petroleums eine Rolle spielen, müsse erst studiert werden.

M a t o u s c h e k (Wien).

Merker, Untersuchungen über zwei neue Cellulose vergärende Bakterien. (Lotos, Prag. Bd. 58. p. 345—346.)

1. Die eine Art stellt farblose, ovale, typisch aerob wachsende Kokken vor. Intensive Cellulosezerstörung hervorrufend z. B. 1 cm breite Filtrierpapierstreifen wurden innerhalb weniger Tage ganz vernichtet, das Gleiche geschah mit Watte, Stärke, aber auch mit lebender Membran. *Elodea*-, *Mnium*-, Farnblätter zeigten nach 6—8 Tagen ganze Lücken im Gewebe. Zuerst wurde die Mittellamelle angegriffen. Das Gleiche sah Verf. bei *Sphagnum*, Algen, Maisblättern. Schutz der Pflanze: Verkieselung, Verkorkung, Verholzung.

2. Die zweite Art ist auch ein Kokke von normalschwarzer Farbe. Wachstum in konzentrischen Ringen auf dem Substrate. Der schwarze Farbstoff ist den Mikroben eigen und zeigt folgende Reaktionen: Schwefelsäure verwandelt die Farbe in eine blaue, Jodchloralhydrat oder Chlorzinkjod oder Jodtinktur mit Schwefelsäure in eine grüne. In der Zucht zeigten sich zwei Abänderungen: Aus unbekanntem Grunde ging plötzlich die Färbung ins Rote über; Sauerstoffmangel verursachte den Übergang der Kokken in Fadenformen. In normale Bedingungen zurückgebracht zeigten diese Abänderungen wieder die Art des Wachstums in schwarzen konzentrischen Ringen. Diese Art wirkt weniger intensiv.

M a t o u s c h e k (Wien).

Euler, Zur Kenntnis der Zellulose. (Zeitschr. f. angew. Chem. 1912. p. 250.)

Verf. hält die für eine enzymatische Hydrolyse der Zellulose bisher beigebrachten Beweise für recht mangelhaft. Es ist zwar nicht zu bezweifeln, daß reine Zellulose von Bakterien und Pilzen angegriffen werden kann, das zu den einschlägigen Studien benutzte Ausgangsmaterial (Hemi-, Oxy- und Hydrozellulose) ist aber so wenig gleichmäßig zusammengesetzt, daß die gewonnenen Resultate nicht eindeutig sind. Besser eignen sich die Spaltungsprodukte der Zellulose, die bei deren Behandlung mit starker Schwefelsäure entstehen und als Zellulosedextrine bezeichnet werden. Das Reduktionsvermögen solcher Zellulosedextrine nahm nach Zugabe von Preßsaft aus *Merulius lacrimans* zweifellos zu, woraus geschlossen werden darf, daß der Meruliusafts eine Zellulosedextrinase enthält.

V o g e l (Bromberg).

Massee, G., A new paint-destroying fungus. [*Phoma pigmentivora* Mass.] (Bull. of Misc. Inform. Kew. 1911. p. 325—326, w. pl.)

Phoma pigmentivora verursacht auf weißen Farbanstrichen rosa Flecken. Ein Zusatz von 2 Proz. Karbolsäure zu der Farbe verhindert die Entwicklung des Pilzes.

Eine Abbildung, sowie eine lateinische Diagnose ist der Arbeit beigegeben.
W. Herter (Tegel).

Spaulding, Perley, *Fungi of Clay mines*. (21. Report Missouri Botan. Garden St. Louis. 1910. p. 189—195.)

In den genannten Bergwerken fand Verf. eine Anzahl von Pilzen auf den zur Bolzung dienenden Hölzern, die wegen der Feuchtigkeit und der unveränderlichen Temperatur an den Fundstellen dort sehr gut gedeihen. Einige Arten waren unfähig, eine sporophore Form zu bilden; andere Arten fruchteten normal. Zu diesen gehören:

Merulius rubellus (nur an einem Ort sehr häufig), *Fomes annosus* (einmal überreichlich auf Pinus-Holz), *F. applanatus*, *Lenzites betulina*, *Polystictes versicolor*, *Stereum spadiceum*, *Hydnum erinaceus* (der Fruchtkörper hing von einem eichenem Balken herab). *H. coralloides*, *H. artocreas* sind seltenere Gäste, desgleichen *Bulgaria iniquinans* (Pers.), *Agaricus phacomycetes* Peck, *Coprinus atramentarius* und der Schirmpilz. — *Merulius lacrymans* var. *verucifer* fand man auf Eichenholz sehr häufig. — Sonderbarerweise fehlten im Bergwerke *Polyporus gilvus* Schw. und *Armillaria mellea* Vahl, die in den umliegenden Wäldern sehr häufig auftreten. — Sterile Mycelien sah Verf. recht oft, doch nur eines ergab, an der Oberfläche kultiviert, eine bestimmte Art, nämlich *Schizophyllum commune*.

Matouschek (Wien).

Möbius, M., *Über Merulius sclerotiorum*. (Ber. d. deutsch. bot. Gesellsch. 1913. p. 147—150.)

Verf. fand in einem Hause, das er auf Hausschwamm untersuchen sollte, neben schwach entwickeltem Mycel Sklerotien von *Merulius sclerotiorum*, kleine, schwarze Knöllchen, die etwas Ähnlichkeit mit Mäuseexkrementen haben und seiner Vermutung nach auch manchmal dafür angesehen worden sein dürften. Das lehmgelbe Mycel neigt zu Strangbildung. Wo Seitenzweige abgegeben werden, häufen sich die Schnallen, so daß oft dichte Geflechte entstehen, doch scheinen an einer Querwand nicht mehr wie zwei Schnallen gebildet zu werden. Sklerotien, Strang- und Schnallenbildung sind auf einer Tafel abgebildet.

Rippel (Augustenberg).

Falck, R., *Über die Erkennung und Unterscheidung des echten Hausschwammes*. (Pharmazeut. Zeitung. 1913. No. 35.)

Verf. hat bekanntlich nachgewiesen, daß in den Häusern eine Anzahl verschiedener *Merulius*arten vorkommen, die früher mit *M. lacrymans* identifiziert wurden und besonders durch physiologische Unterschiede, wie ein verschiedenes Verhalten der Mycelien gegenüber höheren Temperaturen usw. charakterisiert sind. Mez hatte behauptet, daß diese Temperaturwerte durch Gewöhnung verändert werden könnten. Dies bestreitet Verf. auf Grund 9-jähriger Prüfungen, die sowohl von Möller wie von Schaffnit vollauf bestätigt wurden. Hiernach läßt sich eine Verschiebung der Kardinalpunkte hier ebensowenig wie bei anderen Organismen herbeiführen. Verf. weist sodann auf die unzulängliche und unzutreffende Beschreibung der *Merulius*arten wie von *Polyporus vaporarius* und *Coniophora cerebella* usw. in neueren Veröffentlichungen über den „Hausschwamm“ hin und stellt die wichtigsten (im 6. Hefte der Hausschwammforschungen, Verlag Gust. Fischer-Jena, veröffentlichten) Merkmale noch einmal kurz zusammen (vgl. Ref. über die grö-

Bere Arbeit F a l c k s im Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 37. p. 316—317 ff.) Für den Nachweis des echten Hausschwammes ist danach die Feststellung folgender Merkmale zu fordern: a) Beim Vorhandensein von Fruchtkörpern 1. Sporenmessung, 2. Nachweis der Plattenfasern; b) beim Vorhandensein der wurzelähnlichen Stränge: 1. Nachweis der Strangfasern von 4—5 μ Durchmesser, 2. Nachweis der Gefäßhyphen (über 25 μ Durchmesser) mit den charakteristischen Balken, Ringen und Wandverdichtungen. Falls nur graue Mycellappen vorhanden sind, ist der Nachweis der Strangfasern zu erbringen.

c) Liegt nur befallenes Holz oder junges Mycel vor, so ist der Nachweis des echten Hausschwammes durch die kulturelle Prüfung zu erbringen: 1. Kräftiges Ausstrahlen glänzend weißer, schnallenreicher Mycelbüschel in feuchter Kammer. 2. Die ausstrahlenden Mycelien erreichen beim Übertragen in Reinkultur einen Durchmesser von 8 μ . 3. Bei 20° C optimales Mycelwachstum, bei 27° Mycelwachstum gehemmt. Ludwig (Greiz).

Wehmer, C., Hausschwammstudien. III. Ansteckungsversuche mit verschiedenen Holzarten durch *Merulius*-Mycel. (Mykol. Centralbl. Bd. 2. 1913. p. 331—340.)

Um festzustellen, wie verschiedene Holzarten durch das Hausschwammmycel infiziert werden, wurde eine große Zahl verschiedener Hölzer im Versuchskeller mit lebhaft wachsendem Hausschwammmycel in Berührung gebracht. Im ersten Monat erfolgte kein Überwachsen auf die Holzstücke, erst dann setzte ein lebhaftes Wachstum ein, so daß die Probestücke mit Mycel überzogen wurden. Nach etwa 10 Monaten wurde der Versuch unterbrochen. Es ergab sich, daß Holz von Mahagoni, Cedrela, Robinia, Teak, schwarze Walnuß absolut unverändert waren und daß Eiche nur ganz wenig unterseits sich angemorscht zeigte. Dagegen waren völlig erweicht die Stücke von Fichte, Linde, Birke, etwas weniger die von Buche, Ulme und gemeiner Walnuß. Weshalb die zuerst genannten Hölzer in so hohem Maße widerstandsfähig sind, soll noch weiter untersucht werden.

Anhangsweise geht der Verf. noch auf die Feuchtigkeit der Kellerluft im Vergleich zur Temperatur und auf den Wassergehalt des Holzes ein.

Lindau (Berlin).

Betts, A. D., A Bee-hive Fungus, *Pericystis alvei* gen. et sp. nov. (Ann. of Bot. 1912. p. 795—799, 2 pl.)

In den Pollenvorräten des Bienenstockes lebt regelmäßig ein Pilz, der Chlamydosporen (terminal und interkalar) und dazu dunkelgrüne Cysten („cysts“) entwickelt. Erstere können sofort keimen, die Sporen der Cysten aber bedürfen hierzu erst einer Ruhezeit. Das neue Genus mit seinem vorläufig einzigen Vertreter wird auch abgebildet. Matouschek (Wien).

Betts, A. D., The Fungi of the Bee-hive. (Journ. Econ. Biol. Vol. 7. 1912. p. 129—162.)

Eine gründliche Rundschau über Pilze, die in Bienenstöcken leben. Von den 12 bekannt gewordenen Pilzen leben hier nur *Oospora favorum* und *Pericystis alvei* n. g. et sp.; erstere Art ist selten, letztere vom Verf. erst aufgestellt (vide Annals of Botany 26. 1912). Häufig sind auch *Gymnoascus setosus* und *Eremascus fertilis* anzutreffen; erstere Art lebt auch in den Nestern anderer Hymenopteren. Die anderen leben auch außerhalb des Bienenstockes.

Matouschek (Wien).

Schuster, Vaclav u. Ulehla, Vladimir, Studien über Nektarorganismen. (Vorläufige Mitteilung.) (Ber. d. Deutsch. bot. Gesellsch. 1913. p. 129—138.)

Verff. isolierten aus Blütennektarien von etwa 60 Pflanzen etwa 8 bis 10 Hefepilze, 20 Bakterien, 2 oidiumähnliche Pilze, die alle in Reinkultur gezüchtet wurden und morphologisch, physiologisch und biologisch noch genauer studiert werden. Es seien daher auch nur die wichtigsten Einzelheiten referiert: Eine Hefe kam sehr häufig vor bei den verschiedensten Pflanzen (vorläufig „Nektarhefe aus *Lamium* I“ genannt). Die Zelle ist bisquitförmig, manchmal in der Mitte septiert. Am Ende sprossen seitlich eine (Wegweiserform), zwei (Kreuzform) oder mehrere Tochterzellen, so daß in letzterem Falle die Mutterzelle von einem Kranz von Tochterzellen umgeben ist. Ferner noch eine fast immer wiederkehrende Hefe (vorläufig „Nektarhefe aus *Lamium* II“): groß, zylindrisch, oval mit 3—4 Ölkugeln. Dann Hefe- und *Torula*-Arten, weiß, rot, violett und braun. Schimmelpilze fehlten so gut wie ganz (2—3 unter 300 Fällen). Von Bakterien fanden sich fast stets chromogene, gelbe Bakterien. Es zeigte sich so, „daß die Nektarinfektion durch Mikroorganismen nicht zufällig und regellos schwankt.“ *Lamium* I, *Lamium* II und die chromogenen, gelben Bakterien herrschen vor. Die Infektion war teilweise (*Tilia pubescens*) so stark, daß der Nektarsaft in voller Gärung war. Rippel (Augustenberg).

Dewitz, J., Die Bedeutung der Physiologie für die Schädlingsforschung. (Naturwissensch. Zeitschr. f. Forst- u. Landwirtsch. 1913. p. 129—143.)

Verf. stellt aus Literatur und eigener Beobachtung eine Anzahl von Tatsachen zusammen, die den Einfluß und die Nutzbarmachung physiologischer Vorgänge für Schädlingsforschung und -Bekämpfung zeigen sollen. Erwähnt sei z. B. der Lichtfang von Insekten (farbiges Licht, verschiedene Lichtintensität, Auswahl der Geschlechter); ferner der Einfluß von Kälte, Wärme und Feuchtigkeit auf die Entwicklung der Insekten, Abhängigkeit der Entstehung der Geschlechter von äußeren Bedingungen und anderes. Bezüglich aller Einzelheiten muß auf das Original verwiesen werden.

Rippel (Augustenberg).

Tidswell, Fr., Memorandum on the Mode and Signs of Infection of Plants by Fungi. (Sec. Report of the Gov. Bur. of Microbiol. Sydney 1912. p. 167.)

Die Arbeit enthält nichts neues.

Riehm (Berlin-Dahlem).

Fairman, C. E., Notes on new Species of Fungi from various Localities. (Mycologia. Vol. 5. 1913. p. 245.)

Pestalotia truncata septoriana var. nov. wurde auf Blättern einer Rubiacee gefunden; der ursprünglich von De Notaris eingeführte Name *Pestalotia* (nicht *Pestalozzia*!) wird wieder zur Geltung gebracht. *Septoria carricerae* n. sp. ruft Blattflecken auf *Oplismenus hirtellus* hervor; *Sphaeropsis coccolobae* n. sp. parasitiert auf *Coccoloba uvifera*, *S. rhodocarpa* n. sp. auf den Früchten von Rosen, *Hendersonia hypocarpa* n. sp. auf Blütenstielen der Rose, *H. coccolobina* n. sp. auf Blättern von *Coccoloba uvifera*, *Phyllosticta mortoni* n. sp. auf Blättern von *Mangifera indica*, *Pyrenochaeta*

fraxinina n. sp. auf Blattstielen von *Fraxinus*. *Coniothyrium chionanthi* n. sp. wurde auf einem entrindeten Zweige von *Chionanthus virginica* gefunden, *Diplodia akebiae* n. sp. auf kleinen Zweigen von *Akebia quinata* und *Cryptodiscus araneo-cinctus* n. sp. auf abgefallenen entrindeten Zweigstücken.

Riehm (Berlin-Dahlem).

Heinze, B., Über die durch Bakterien hervorgerufenen Krankheiten und Schädigungen unserer Kulturpflanzen. (Landwirtsch. Mitteil. f. d. Prov. Sachsen. Beil. z. Halle-schen Ztg. 1912. No. 42. p. 165—167, 169—170.)

Der einzig ausschlaggebende Versuch, durch eine künstliche Impfung mit Reinkulturen der betreffenden Organismen, ein gesundes Organ krank zu machen, ist nur für sehr wenige Bakterienkrankheiten der Pflanzen ausgeführt worden. Es ist auch merkwürdig, daß Bakterien allein eine Pflanze befallen. Denn ihnen fehlt ein stark ausgeprägtes Wanderungsvermögen; die Zwischenräume enthalten bei den Pflanzen feuchte Luft, aber nur sehr wenige Nährstoffe. Die tierischen Wesen liefern den Bakterien viel mehr Nährstoffe. Allerdings brauchen die Bakterien, welche Pflanzenkrankheiten hervorbringen, keine höheren Temperaturen, sie können auch in der Umgebung der Pflanzen zunächst immer als Saprophyten leben, bis besondere Umstände, die zum größten Teil noch ganz ungenügend erforscht sind, sie veranlassen, in nächster Nähe, meist wohl von der Oberfläche der Pflanze aus, von der saprophytischen Lebensweise zur parasitischen überzugehen.

Welche Erkrankungen der Pflanzen können nur als vorwiegend oder rein bakterielle angesprochen werden? Es sind dies der Apple- oder Pear-blight (Rindenerkrankung in Amerika), der Sorghum blight (Blattkrankheit diverser Hirsearten in Amerika), die Rotzkrankheit der Hyazinthenzwiebeln, eine besondere Art der sogenannten Naßfäule der Kartoffelknollen. Meist durch zufällige Verletzungen gelangen die Mikroorganismen ins Innere der pflanzlichen Gewebe; jauchige Zersetzung erfolgt, wobei meist schädliche Säuren und Gifte gebildet werden. Verf. bespricht nun auch die Verhältnisse bei der Schwarzbeinigkeit, der Ring- und Blattrollkrankheit der Kartoffeln, die Gummosis der Zuckerrübe, die Mosaikkkrankheit der Tabakblätter, die Schorfkrankheiten überhaupt. Der Schorf pflügt auch auf leichteren Böden nicht sofort nach dem Kalken oder Mergeln aufzutreten, sondern erst einige Jahre später. Bis zu einem gewissen Grade könnte man dadurch vorbeugen, daß man eventuell nötige Kalkungen nicht direkt zu Kartoffeln, sondern möglichst mehrere Jahre zuvor vornimmt, und daß man nach der Ernte gar keine Kartoffeln auf dem Felde liegen läßt. Manche Böden müssen mit den Erregern der „Schorfkrankheit“ geradezu verseucht sein, da dort stets die Kartoffeln (auch einwandfreies Saatgut) erkrankt. Solche Böden enthalten meist viel Bauschutt, also viel Kalk. Andere Krankheiten sind: Bakterienfäule der Kartoffeln (Vorsicht beim Einmieten; im Frühjahr sehr schnelle Entleerung der Mieten), die Schwarzfäule des Kohls (noch wenig erforscht), die Weichfäulen der Rüben, Möhren, Bohnen, Mais, Gurken, Melonen, Kürbisse, die Bakterienkrankheit des Liebstöckel (*Osterwaller*), die Bakteriengallen des Ölbaumes (*Petri*), der in Deutschland seltene „Brand“ der Apfel- und Birnbäume, die Knollenkrankheit der Ölbäume, der Bakterienbrand (Rindenerkrankung) der Pflaumen, Reineclauden und Kirschen (*Aderhold und Ruhland*). — Sehr lesenswert sind die Erläuterungen über die Möglichkeit, daß gewisse Bakterien plötzlich oder allmählich neue Eigen-

schaften erwerben können, da man ja spezifische Gärungsorganismen allmählich (durch Passagekulturen) in starke Fäulniserreger umzüchten kann, und andererseits die Warnung, rohes Gemüse, das kurz zuvor mit Jauche usw. gedüngt war, nicht zu genießen. Die künstlichen Immunisierungsversuche von Pflanzen haben bisher keine praktisch verwertbaren Ergebnisse gebracht. Es kommt ja die Rolle der Sortenwahl, Düngung, Bodenbearbeitung, die sachgemäße Aufbewahrung der Ernteerzeugnisse in Betracht. Viel weiter wird man mit einer besseren rationellen Düngung bzw. Ernährung der Pflanzen kommen. Anschließend bespricht Verf. noch die Samenfäulnis. Pektinvergärer spielen eine wichtige Rolle dabei, doch ist über die Verbreitung derselben im Boden noch wenig Sicheres bekannt. Soviel steht fest, daß sie sich dann vermehren, wenn mehrere Jahre hindurch die gleiche Pflanzenart auf dem Felde gepflanzt wird. Es wird sich später zeigen, ob gewisse Stoffe (löslicher Stickstoff, Schwefel, Phosphorsäure) einen guten Einfluß mit sich bringen. — Um die Boden- und Pflanzenmüdigkeitserscheinungen, bei der sicher auch Bakterien mitwirken, zu beseitigen, wird es sich empfehlen, die schädlichen Bodenmikroben im Acker zu vernichten. Hierzu sind die wichtigsten Mittel Kresole und Phenole, Chlorkalk und Schwefelkohlenstoff.

M a t o u s c h e k (Wien).

Sureya, M., Sur quelques Champignons inférieurs nouveaux ou peu connus. (Bull. Soc. mycol. France. T. 27. p. 220—222.)

Beschreibung von *Didymosphaeria eutypae* n. sp. (auf abgestorbenen Eichenzweigen, in den alten Stromas der *Eutypa lata*), *Macrophoma onobrychidis* n. sp. (auf lebenden Stengeln von *Onobrychis sativa*) und *Phyllosticta cameliae* West. (auf den Blättern der Kamelie).

L a k o n (Tharandt).

Grove, W. B., Mycological Notes. (Journ. of Bot. Vol. 49. p. 366—369.)

Notizen über:

Uromyces flectens Lagerheim an *Trifolium repens*; *U. Loti* Blytt. an *Lotus corniculatus*; *U. ambiguus* Lév. an *Allium*; *U. Lilii* (Link) Fuck. an *Lilium candidum*; *Dothidella Betulae-nanae* (Karst.) an *Betula nana*.

W. H e r t e r (Tegel).

Lloyd, C. G., Mycological Notes. No. 37. Cincinnati, O. 1911. p. 493—508. Fig. 385—394.

Die Lieferung beginnt mit biographischen Mitteilungen über E. Boudier, P. Klincksieck, B. D. Greene und Rev. C. Torrend. Es folgen Notizen über einen Parasiten auf *Taxodium distichum*, der von Schweinitz zuerst als *Merulius Cupressi*, dann als *Cantharellus* C. und schließlich von Fries als *Cyphella* C. beschrieben wurde, sich aber nunmehr als eine Galle herausgestellt hat. Ein ähnlicher Irrtum ist dem Verf. selber unterlaufen, indem er die am Kopfe eines Insekts haftenden keuligen Pollinien einer *Asclepias* für einen Pilz ansah.

Den wichtigsten Teil der Lieferung bilden die Beschreibungen von *Hexagona Pobeguini*, *H. dermatiphora*, *H. subtenuis*, *Lenzites ochroleuca*, sowie Notizen über *Mutinus bambusinus*, *Phallus indusiatus* (in China Nahrungsmittel), *Ph.*

imperialis und *Ph. impudicus*, die Phallinen von Mauritius und die Myxomyzeten von Samoa. W. Herter (Tegel).

Bubak, Fr., Ein Beitrag zur Pilzflora von Sachsen. (Annal. Mycol. Vol. 10. 1912. p. 46—53, 2 Fig.)

Von den neuen Arten erwähnen wir *Phyllosticta grandimaculans* auf kultivierten *Fragaria*, *Phoma Spinaciae* auf lebenden und abgestorbenen Stengeln des Spinat, *Asteroma argentea* auf lebenden Blättern von *Salix Caprea*, *Ascochyta sambucella* auf lebenden Blättern von *Sambucus racemosa*, *Sclerophoma simplex* auf Ästen von *Frangula alnus*, *Zythia Trifolii* auf abgemähten und getrockneten Stengeln von *Trifolium pratense* und die neue Hyalostilbeen-Gattung *Coremiella cystopoides* auf abgestorbenen Teilen von *Lythrum Salicaria*.

H. Sydow (Schöneberg).

Bubák, Franz, Houby Cěské. Díl II. Sněti (Hemisbasidii). [= Die Pilze Böhmens. T. II. Hemibasidii.] (Arch. f. naturwiss. Landesdurchforsch. von Böhmen. Bd. 15. No. 3.) Groß 8°. 84 pp. Prag (Fr. Rivná) 1912. [In tschechischer Sprache.]

Auf die Rostpilze (I. Teil) ließ Verf. die Ustilagineen und Tilletiineen folgen. Die schönen Originalabbildungen, sowie die gut und praktisch angelegten Schlüssel führen den Bestimmer sicher zum Ziele. Über die bisher in Böhmen nachgewiesenen Arten der einzelnen Gattungen, über die den Kulturpflanzen (Getreide) besonders schädlichen und über diejenigen Arten, welche wohl sicher in Böhmen gefunden werden, sowie über die Zahl der im vorliegenden Werke überhaupt beschriebenen Arten klärt uns die vom Referenten verfertigte Tabelle auf kurzem Wege auf:

Gattung	Zahl der überhaupt beschriebenen Arten	Zahl der tatsächlich bisher in Böhmen gefund. Arten	Zahl der mutmaßlich noch in Böhmen aufzufinden- den Arten	Arten, welche den Getreidepflanzen in Böhmen recht schädlich sind
Ustilago	41	26	15	<i>U. levis</i> Magn. (auf <i>Avena sativa</i>), <i>U. Hordei</i> (Pers.) auf <i>Hordeum distichum</i> , <i>U. Avenae</i> (Pers.) auf <i>A. sativa</i> , <i>U. nuda</i> (Pers.) auf <i>H. distichum</i> , <i>U. Tritici</i> (Pers.) auf <i>Triticum</i> , <i>U. Zeae</i> Mays (D. C.) auf <i>Zea Mays</i>
Sphaecelotheca De Bary	8	5	3	<i>Sph. Panicum miliacei</i> (Pers.) Bub. auf <i>Panicum miliaceum</i>
Cintractia Cornu	6	3	3	—
Elateromyces Bubák novum genus	1	1	—	—
Schizonella Schroet.	1	1	—	—

7*

Gattung	Zahl der überhaupt beschriebenen Arten	Zahl der tatsächlich bisher in Böhmen gefunden. Arten	Zahl der mutmaßlich noch in Böhmen aufzufindenden Arten	Arten, welche den Getreidepflanzen in Böhmen recht schädlich sind
<i>Sorosporium</i> Rud.	2	1	1	—
<i>Tolysporium</i> Wor.	2	1	1	—
<i>Thecaphora</i> Fing.	4	2	2	—
<i>Neovossia</i> Körn.	1	—	1	—
<i>Tilletia</i> Tul.	22	9	13	<i>Tilletia Tritici</i> (Bjerk.) Wint., auf <i>Triticum vulgare</i> ; <i>T. Secalis</i> (Cda.) Kühn auf <i>Secale cereale</i> (selten), <i>T. Pančićii</i> Bub. et Raj. (auf <i>Hordeum</i>)
<i>Melanotaelium</i> De Bary	4	1	3	—
<i>Entyloma</i> De Bary	29	15	14	—
<i>Schinzia</i> Naeg.	5	1	4	—
<i>Schroeteria</i>	2	1	1	—
<i>Tubercinia</i> (Fries) Wor.-emend	4	1	3	—
<i>Urocystis</i> Rab.	17	10	7	<i>U. occulta</i> (Wallr.) auf <i>Secale cereale</i>
<i>Doassansia</i> Cornu	4	2	2	—
<i>Doassansiosis</i> Setch.	1	—	1	—
<i>Tracya</i> Syd.	1	—	1	—
<i>Graphiola</i> Poitn.	1	1	—	—

Ustilago Ischaemi Fuckel wird als synonym zu *Sphacelotheca Andropogonis* (Opiz) Bub. gezählt. — Zu *Elateromyces* Bubák novum genus zählt Verf. *Uredo olivacea* DC. und *Ustilago Treubii* Solms. — *Tilletia corcontica* Bubák n. sp. (auf *Calamagrostis Halleriana*) steht zwischen *T. striaeformis* (West.) Oudem. und *T. Calamagrostidis* Fuck. — *Tilletia Sphagni* Naw. gehört vielleicht gar nicht zu den Hemi-basidii. — *Urocystis Corydalis* Niessl. (auf *Corydalis cava*) gehört zu *Entyloma urocystoides* Bub. nov. nomen. — *Urocystis Lagerheimii* Bub. n. sp. ist *U. Junci* von Born-

holm, von Lagerheim gesammelt und ausgegeben. — *Urocystis Leucoji* Bub. n. sp. (auf *Leucojum vernum* zu Teplitz in Petraks *Fungi Eichleriani* No. 1) unterscheidet sich schon habituell von *Ur. Colchici*. — *Graphiola Phoenicis* (Moug.) Poit. tritt nicht selten auf *Phoenix dactylifera* auf. — Verf. berücksichtigte in seiner Arbeit auch die älteren Funde aus Böhmen nach kritischer Prüfung derselben. Matouschek (Wien).

Magnus, Paul, Zur Kenntniss der parasitischen Pilze Siebenbürgens. (Mitt. d. Thüring. bot. Ver. Bd. 30. 1913. p. 44—48.)

Bearbeitung von Mikromyceten, die J. Bornmüller im Sommer 1912 in Siebenbürgen und den Karpathen gesammelt hat. 48 Arten, zumeist aus höheren Regionen (darunter 17 *Puccinia*-Arten) werden verzeichnet. *Fungi imperfecti* waren aus Siebenbürgen bisher unbekannt. — Mit *Peridermium acicola* Rabenh. bezeichnet Verf. das auf den Nadeln von *Pinus*-Arten (hier auf *Pinus Pumilio* Hke. der hohen Tatra) auftretende *Peridermium*, das zu *Coleosporium*-Arten auf sehr verschiedenen Wirtspflanzen gehören kann, da *Per. Pini* Willd. sicher das auf dem Stamme von *Pinus*-Arten hervorbrechende *Peridermium* mit umfaßt, von dem einzelne Glieder zu *Cronartium*-Arten gehören. Matouschek (Wien).

Petrak, Franz, *Flora Bohemiae et Moraviae exsiccata.* Ser. II. Abt. I. Pilze. Lief. I—XIII. No. 1—650. 1912/1913. Preis pro Lief. 10 M.

Vollständige Inhaltsverzeichnisse dieses rasch vorwärts schreitenden neuen Exsikkatenwerkes erhält man kostenlos beim Herausgeber in Mährisch-Weißkirchen (Österreich). Groß ist die Zahl der schädigenden Pilze (*Puccinia* 57 Arten, *Phragmidium* 6, *Uromyces* 16, *Ustilago* 5, *Peronospora* 12, *Cucurbitaria* 8, *Nectria* 7, *Valsa* 18 usw.). Neu für die Wissenschaft sind: *Eriosphaeria albido-mucosa* Rehm, *Diaporthe Genistae* Rehm, *Valsa cincta* Fr. var. *n. rubincola* Rehm, *Cryptosphaeria moravica* Petr., *Cucurbitaria Pruni-spinosae* Rehm, *Lachnella fusco-cinnabarina* Rehm, *Ascochyta Zimmermanni* Bubák, *Cenothospora Rubi* Bub., *Phyllosticta cheiranthicola* Bub., *Sporodesmium lycium* Bub., *Stagonospora foliicola* Bub., *Lepothyrium Hrubyi* Bub., *Aerisporella rhodophila* (Sacc.) v. Höhn. var. *n. Tiliae* Rehm, *Diaporthe Saccardiana* Kunze var. *n. moravica* Petr. Dazu eine große Zahl recht seltener und bisher noch nicht ausgegebener Arten. Das Material ist sehr gut präpariert und aufgelegt.

Matouschek (Wien).

Briosi, Giovanni, *Rassegna crittogamica per il secondo semestre dell' anno 1907.* (Atti del R. Istit. Botan. dell' Univers. di Pavia. Ser. II. T. 12. p. 316—327.)

Bemerkenswert sind außer den im vorstehenden Referat genannten Schädlingen folgende:

Auf der Weinrebe: *Coniothyrium Diplodiella* (Speg.) Sacc., *Oidium Tuckeri* Berk., *Phyllosticta vitis* Sacc., *Cercospora viticola* (Ces.) Sacc., *Tetranychus telarius* (L.), *Anthispila Rivillei* St.

Auf Cerealien: *Puccinia graminis* Pers. auf Weizen und Gerste, *Ustilago tritici* (Pers.) Jens., *Claviceps purpurea* (Fr.) Tul. und *Calandra granaria* Oliv. auf Weizen, *Epicoccum neglectum* Desm. auf Reis.

Auf Obstbäumen: *Oidium leucoconium* Desm. und *Clasterosporium Amygdalearum* (Pass.) Sacc. auf *Prunus persica*, *Gymnosporangium juniperinum* Wint., *Trichothecium roseum* (Pers.) Link, *Coniothyrium tirolense* Bubák und *Phytoptus piri*

Sor. auf *Pirus communis*, *Marsonia Juglandis* (Lib.) Sacc. auf *Juglans regia*, *Eriophyes Padi* Nel. auf einer *Prunus*-Art, *Entomospodium Mespili* (DC.) Sacc. auf *Mespilus germanica*, *Phyllactinia suffulta* (Rebent.) Sacc. auf *Corylus avellana*, *Phyllosticta maculiformis* Sacc. auf *Castanea vesca*.

Auf Gemüsepflanzen: *Septoria Petroselini* Desmaz. var. *Apii* Briosi et Cav. auf *Apium graveolens*? („sedani“), *Puccinia Asparagi* DC. auf *Asparagus officinalis*, *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary auf *Solanum Lycopersicum*, *Fusarium niveum* auf *Cucumis melo* („cocomero“).

Auf Futterpflanzen: *Oidium erysiphoides* Fr. auf *Trifolium*.

Auf Zierpflanzen: *Gloeosporium intermedium* v. *brevipes* Sacc. auf *Ficus striata*, *Dendrophoma Convallariae* Cavr. auf *Convallaria majalis*, *Ramularia lactea* (Desm.) Sacc. auf *Viola odorata*.

Auf Industriepflanzen: *Aecidium elatinum* Alb. et Schw. auf *Abies pectinata*, *Septogloeum Mori* (Lév.) Briosi et Cavara und *Phyllosticta osteospora* Sacc. auf *Morus*, *Phyllactinia suffulta* (Rebent.) Sacc. auf *Alnus glutinosa*, *Phyllosticta populina* Sacc. und *Septoria Populi* Desm. auf *Populus nigra*, *Phyllosticta salicicola* Thuem. auf *Salix alba*, *Eriophyes Padi* Nel. auf *Prunus Padus*, *Cynies polycera* und *Andriscus fecundatrix* Hartz auf *Quercus*, *Prays Oleellus* Fah., *Dacus Oleae* Fabr. und *Dematophora necatrix* auf *Olea europaea*.

Auf sonstigen Pflanzen: *Uromyces Behenis* (DC.) Unger auf *Silene inflata*, *Phyllosticta Juglandis* (DC.) Sacc. auf *Juglans regia*, *Puccinia Malvacearum* Mont. auf *Althaea*, *Puccinia Rumicis scutati* (D.C.) Wint. auf *Rumex acetosella*, *Peronospora alta* Fck. auf *Plantago major*, *Ovularia obliqua* (Cook) Oud. auf *Rumex*, *Oidium erysiphoides* Fr. auf *Humulus Lupulus*, *Puccinia Phragmitis* (Schum.) Körn. auf *Phragmites communis*.

W. Herter (Tegel).

Briosi, Giovanni, *Rassegna crittogamica dell' anno 1908 con notizie sulle malattie dell' erba medica causate da parassiti vegetali.* (Bollet. del Minist. di agricolt. industr. e commercio. T. 9. Ser. C. 13 pp.)

Außer den in vorstehenden Referaten bereits genannten Parasiten wurden im Jahre 1908 u. a. folgende bemerkt:

Auf der Weinrebe: *Cladosporium viticolum* Cs., *Botrytis cinerea* Pers., *Cuscuta*, *Perrisia oenophila* Haimhl., *Cochylis ambiguella* Hb.

Auf Cerealien: *Ustilago Avenae* Jens., *U. Maydis* (DC.) Cda., *Septoria Tritici* Dsm., ferner *Cladosporium herbarum* Lk. auf Weizen, *Piricularia Oryzae* Briosi et Cavara und *Helminthosporium macrocarpum* Grev. auf Reis, *Aspergillus glaucus* (L.) Link und *Eurotium herbariorum* auf Mais, *Alternaria* auf Weizen, *Helminthosporium*, *Epicoecum* und *Siphonophora cerealis* Kalt. auf Hafer.

Auf Obstbäumen: *Exoascus deformans* Fuck., *Phyllosticta Persicae* Sacc. und *Aphis Persicae* Fonsc. auf *Prunus persica*, *Podosphaera tridactyla* (Wall.) De Bary auf *Pr. armeniaca*, *Gloeosporium Coryli* (Dsm.) Sacc. auf *Corylus avellana*, *Puccinia Prunispinosae* Pers. und *Phyllosticta circumscissa* Cooke auf *Prunus*-Arten. *Phyllosticta cydonicola* P. Henn. und *Septogloeum Cydoniae* (Mont.) Peglion auf *Cydonia vulgaris*, *Macrophoma Mantegazziana* Penz. und *Septoria Citri* Pass. auf *Citrus Limonum*, *Sphaeropsis malorum* und *Aphis piri* Koch auf *Pirus communis*, *Phyllosticta prunicola* (Op.) Sacc. auf *Prunus Pissardi* Carr., *Monilia fructigena* Pers. auf *Pirus communis* und *Cydonia vulgaris*, *Fusicladium dendriticum* (Wallr.) Fuck., *Schizoneura lanigera* Hausm. und *Hyponomeuta malinella* Zell. auf *Pirus malus*, *Cladosporium Zizyphi* Karst., *Septoria Zizyphi* Sacc. und *Phyllosticta Zizyphi* Thumb. auf *Zizyphus vulgaris*, *Coryneum perniciosum*

Briosi auf *Castanea vesca*, *Trametes cinnabarina* (Jacq.) Fr. auf *Prunus avium* („ciliegio“), *Fusarium* auf *Ficus carica*, *Hyponomeuta padella* auf *Prunus* und *Crataegus*.

Auf Gemüsepflanzen: *Phytophthora infestans* (Mont.) De By. auf *Solanum tuberosum*, *Septoria Lycopersici* (Speg.) v. *europaea* Briosi et Cavara, *Fusarium* und *Macrosporium* auf *Solanum Lycopersicum*, *Oidium erysiphoides* Fr. auf *Cucurbita pepo*, *Cercospora beticola* Sacc. auf *Beta*, *C. zonata* Wtr. auf *Vicia faba*, *Macrosporium*, *Fusarium* und *Platypharrea poeciloptera* auf *Asparagus officinalis*, *Philophylla onopordinis* Jab. und *Ph. centaurea* auf *Apium graveolens*? („sedano“).

Auf Futterpflanzen: *Uromyces striatus* Schr., *Pseudopeziza Medicaginis* (Lib.) Sacc., *Pleosphaerulina Briosiana* Pollacci und *Cuscuta Epithymum* Murr. auf *Medicago sativa*, *Uromyces Trifolii* Lév., *Pseudopeziza Trifolii* Fuck. und *Fusarium* auf *Trifolium*, *Rhizoctonia violacea* Tul. auf *Medicago*-Arten, *Puccinia graminis* Pers. auf Gramineen.

Auf Zierpflanzen: *Oidium Evonymi japonicae* (Arc.) Sacc. auf *Evonymus japonica*, *Sphaerotheca pannosa* (Wallr.) Lév. auf Rosen, *Uromyces caryophyllinus* (Schrk.) Schroet. auf Nelken, *Aspidiotus Nerii* Bouché auf *Nerium oleander*, *Macrosporium Pelargonii* Ell. et Ev. auf *Pelargonium zonatum* („geranio“), *Septoria asclepiadicola* E. et E. auf *Asclepias tuberosa*, *Epicoccum vulgare* Cda. auf *Iris unguicularis*, *Pestalozzia*? auf *Ilex aquifolium*, *Pestalozzia funerea* Desm. auf *Rhododendron*, *P. Guepini* Desm. auf *Camellia*, *Phoma Araucariae* auf *Araucaria*, *Diplodia* auf *Olea fragrans*, *Phyllosticta Calycanthi* Cav. und *Macrosporium Calycanthi* Cav. auf *Calycanthus*.

Auf Industriepflanzen: *Oidium quercinum* Thüm. auf *Quercus* von einer großen Anzahl von Standorten in der Provinz Pavia sowie von Gallarate, Varese, Val Ganna, Porto Ceresio, aus der Gegend von Besozzo, Crugnola, Besnate usw. (Brianza) und von Bergamo. *Dothichiza populea* Sacc. und *Cytospora nivea* (Hoffm.) Sacc. auf der kanadischen Pappel, *Volvaria volvacea* Bull., *Phleospora maculans* (Bereng.) Allesch. und *Armillaria mellea* Vahl. auf *Morus*, *Uncinula Aceris* (DC.) Sacc. auf *Acer*, *Aspergillus glaucus* Link und *Oospora* auf *Nicotiana tabacum*, *Pholiota aegerita* Brig. auf *Populus*, *Fomes igniarius* (L.) Fr. auf *Salix*, *Cuscuta epilinum* Weitch. auf *Linum usitatissimum*, *Leucaspis Pini* Hartig auf *Pinus*.

Auf sonstigen Pflanzen: *Peronospora effusa* (Grev.) Rbh. auf *Chenopodium album*, *Sphaelotheca Hydropiperis* (Schum.) De Bary auf *Persicaria*, *Puccinia Malvacearum* Mont. auf *Malva*, *Coleosporium Sonchi* (Pers.) Lév. auf *Tussilago farfara*, *Ascochyta Pisi* Lib., *Cladosporium* und *Macrosporium* auf *Vicia*, *Septoria Phytolaccae* Cavr. auf *Phytolacca decandra*, *Ascochyta Pisi* Lib. auf *Pisum*, *Ovularia obliqua* (Cook.) And. auf *Rumex*, *O. ovata* (Fuck.) Sacc. auf *Salvia pratensis*, *Oidium erysiphoides* Fr. mit *Cinnabolum* auf *Spiraea ulmaria*, *O. Hormyni* Farneti auf *Salvia*, *Fusicladium Sorghi* Pass. auf *Sorghum halepense*, *Cladosporium* auf *Crataegus*.

Der Abhandlung ist ein allgemeiner Teil über die Krankheiten der Luzerne (*Medicago sativa*) angegliedert. W. Herter (Tegel).

Maire, Quelques remarques sur divers Champignons parasites observés en Normandie. (Bull. Soc. Linnéenne de Normandie. Sér. 6. T. 2. p. 67—68.)

1. *Sorosphaera Veronicae* Schröt. fand Verf. auf *Veronica Chamaedris* im botanischen Garten zu Caen.

2. Auf *Oenanthe crocata* fand Verf. ein noch nicht beschriebenes *Aecidium*. Es gehört auf Grund direkter Beobachtung und von

Infektionsversuchen zu *Uromyces Scirpi* (Cast.) Lagerh., welche Pilzart auf *Scirpus maritimus* vorkommt.

3. Er beschreibt eine neue Chytridinee, gefunden auf Pollenkörnern von Pinus, die auf den Bassins des oben genannten Gartens schwammen. Er nennt den Pilz *Rhizophidium monosporum*: verzweigte Rhizoiden fehlen, der Sporocyst öffnet sich durch einen einzigen Porus.
Matouschek (Wien).

Grove, W. B., Four little known British Fungi. (Journ. of Econom. Biology. Vol. 6. 1911. p. 38—49. 2 table.)

1. *Hormodendron cladosporioides* (Fres.) Sacc. ist vielleicht doch nur eine Wachstumsform von *Cladosporium herbarum*. Mit ersterer Art sind wahrscheinlich zu vereinigen: *H. viride* (Fres.), *nigro-virens* (Fres.), *chlorinum* (Fres.), *elatum* Harz, *griseum* Hedge.

2. Auf *Sterigmatocystis niger* (= *Aspergillus niger* v. Tiegh.) baut Verf. die neue Gattung *Rhopalocystis* auf, die sich von *Sterigmatocystis* durch gefärbte Konidien unterscheidet. Zu diesem neuen Genus müssen folgerichtig auch eingereiht werden: *Ster. fusca*, *phacocephala*, *antacustica*, *carbonaria*.

Matouschek (Wien).

Grove, W. B., New or noteworthy Fungi. Part IV. (Journ. of Bot. Vol. 50. p. 44—55. plat. 515, 516.)

Beschreibung weiterer 47 in England beobachteter Pilze. Es handelt sich um Parasiten und Saprophyten. Die bereits früher benannten werden in englischer, die neuen in lateinischer Sprache beschrieben.

Neu sind von Bewohnern lebender Pflanzen:

Gloeosporium phacidiellum auf den Blättern von *Prunus laurocerasus*, *Cryptostictella* nov. gen. *bractearum* auf den Brakteen von *Tilia europaea*, *Pleospora thujae* auf Zapfenschuppen von *Thuja occidentalis*, *Sphacelia Curreyana* in den Sklerotien von *Sclerotinia Curreyana* auf *Juncus*.

24 Arten sind abgebildet.

W. Herter (Tegel).

Hofer, J., Notizen zu einer Pilzflora des Kanton Aargau. (Festschr. z. Feier d. 100-jährig. Bestand. d. Aargauisch. Naturforsch. Gesellsch. zugleich H. 12 der Mitteil. derselben. 1911. p. 84—92.)

Unter den Hymenomyzeten erwähnt Verf. eine größere Zahl von Pilzen, die mindestens stark saprophytisch leben, z. B. *Polyporus hispidus* (Bull.) in sehr großen Exemplaren auf Obstbäumen, *Polyporus caudicinum* (Scop.) auf Wundstellen an Obstbäumen. Außerdem werden *Gasteromyzeten*, *Discomyzeten* und *Tuberazeen* erwähnt.

Matouschek (Wien).

Cruchet, D., Mayor, E. et Cruchet, P., Contribution à l'étude de la flore cryptogamique du canton du Valais. (Extr. du Bull. de la Murithienne. Fasc. 37.)

Ähnlich wie in ihren früheren Veröffentlichungen bringen die Verff. hier ein Verzeichnis parasitischer Pilze, die sie im Juli 1911 auf Exkursionen in der Umgebung von Siders und Visp im Wallis und längs der Simplonstrasse sammelten. Die Funde sind nach den Lokalitäten aufgezählt. Als neu wird ein Rostpilz auf *Gypsophila repens* beschrieben und von den Verff. *Puccinia Gypsophilae-repentis* May. et Cruch.

benannt. Der Pilz fand sich in der Gondoschlucht und scheint eine *Mikropuccinia* zu sein.

O. Schneider-Orelli (Wädenswil).

Volkart, A., Fungi, Pilze. [In: Pflanzengeographische Monographie des Berninagebietes von E. Rübel.] (Englers Botanische Jahrbücher. Bd. 47. p. 505—521.)

Verf. gibt hier ein Verzeichnis der bis jetzt im Berninagebiete (Kanton Graubünden) festgestellten Pilze; er zählt nahezu 200 Arten mit genauen Fundortsangaben auf, worunter sich auch einige neue Spezies befinden, nämlich *Puccinia Rübelii*, *Venturia longisetosa*, *Venturia Braunii*, *Pyrenophora pileata*, *Gnomoniella Alnobetulae* und *Phyllosticta interficiens*.

Schneider-Orelli (Wädenswil).

Tranzschel et Serebrianikow, Mycotheca Rossica. Fasz. 1—4. Leipzig (Theod. Osw. Weigel) 1910—1911.

Die Pilze des Exsikkatenwerkes (Fasz. 1—4) stammen aus dem mittleren und südlichen Rußland, Krim, Kaukasus, Finnland, Turkestan. Mitarbeiter sind: Woronow, Potebnia, Schirajewsky, Krylow, Androssow, Werestschagin u. A. — Rehm bestimmte viele Ascomyceten. Folgende Gattungen, Arten oder Formen sind neu:

Albugo Eurotiae W. Tranzschel, auf *Eurotia ceratoides*; *Puccinia Schirajewskii* W. Tranz. (*Brachypuccinia*, auf sieben *Serratula*-Arten in diversen Gegenden, von *P. tinctoriicola* Magn. deutlich verschieden); *P. nitidula* W. Tranz. (auf *Polygonum alpinum* und *P. Laxmani* Lep. in voneinander weit entfernten Gebieten); *P. sibirica* W. Tranz. (auf *Polygonum alpinum* in der Prov. Tomsk), *Melonomma medium* Sacc. et Spez. var. *Calligoni* Rehm (auf Stengeln von *Calligonum erinaceum* Borscz); *Cucurbitaria Halimodendri* Rehm (auf Stengeln von *Halimodendron argenteum*, zu einer Gruppe von Arten gehörend, deren Typus *C. globata* (Fr.) Ces. et De Not. ist); *Physalosporina Tranzschelii* Woron. n. g. et sp. (auf Stengeln von *Caragana frutescens*; von *Botryosphaeria* durch die Farbe und Struktur der Stromata und die Form und Anordnung der Perithezien verschieden); *Camarosporium Halimodendri* P. Henn. var. *spontanea* W. Tranz. (*Sporulae 3-septatae*); *Cercospora olivascens* Sacc. var. *minor* Serebr. (in foliis *Aristolochiae Clematidis*); *Coleosporium Datiscae* W. Tranz. (auf *Datisca cannabina* mit allen Entwicklungsstufen); *Calonectria Fuckelii* (Sacc.) Rehm f. *Everniae* Rehm (Sporen 2-, später 4-zellig); *Anthostomella constipata* (Mt.) Sacc. var. *diminuta* Rehm. Von folgenden Arten werden genauere Diagnosen entworfen: *Phragmidium Andersoni* Shear (bisher aus Amerika bekannt, Tranzschels auch die Pyknidien und Uredosporen), *Plasmopara ribicola* Schröt., *Melasmia Caragana* Thüm.

Wir haben es mit einem zweiten Exsikkatenwerke, das sich mit den Pilzen Rußlands beschäftigt, zu tun.

Matouschek (Wien).

Potebnia, A., Material k micologičeskoc florě Kurskoci Charkovskoc gub. [Beiträge zur Micromycetenflora der Gouv. Kursk und Charkow.] (Travaux soc. natur. à l'Univ. Impér. de Kharkow. T. 43. p. 203—241.) [Russisch.]

Verf. behandelt die *Ustilagineae*, *Uredinales*, *Ascomycetes*, *Sphaeriales*, *Deuteromycetae*, *Melanconiales*, *Hyphales*. Eine große Zahl von Arten ergab sich aus den genannten Gebieten als neu, darunter viele Schädlinge. — Von ähnlichen Arten entwirft er gute Figuren, durchwegs Originale. Neu sind:

Neu sind: *Mycosphaerella Jaczewskii* (auf *Phleospora Caraganae* Jacz. auf Blättern von *Caragana arborescens*), *M. Violae* (auf *Viola hirta*-Blättern), *Ascochyta Melonis* (mit *Didymella Me-*

lonis Pass. auf diversen Organen von *Cucumis Melo*), *Diplodia Betae* (auf *Beta vulgaris*), *Phleospora Caraganae* Jacz. nov. var. *Lathyri*, *Melanconium Czerniaiewi* (auf jungen Eichentrieben).

Die Arbeit bringt auch Ergänzungen zu den bestehenden Diagnosen vieler Arten und beschäftigt sich mit der Verbreitung der Arten besonders in Rußland. Matouschek (Wien).

Petroff, J. P., Die Pilze des Moskauer Distriktes. (Bull. d. Jard. impér. botan. de St. Pétersbourg. T. 11. p. 63—73.) [Russ.]

Eine Fortsetzung der Studien des Verf., also eine Fortsetzung des 1910, l. c., publizierten ersten Beitrages.

32 Pilze zählt er auf, darunter Schädlinge und Parasiten aus den Gruppen *Ustilagineae*, *Ascomycetes*, *Uredinales*, *Hymenomyces*, *Fungi imperfecti*. Neue Arten oder Formen werden nicht erwähnt. In einem Anhang gibt Verf. noch Bemerkungen zu 5 Nummern der im 1. Beitrage publizierten Pilzarten.

Matouschek (Wien).

Sydow, H. und P., Einige neue parasitische Pilze aus Rußland. (Annales Mycol. Vol. 10. p. 214—217.)

Enthält die Beschreibungen von:

Ustilago Trebouxii (auf *Melica ciliata* und *Triticum cristatum*), *Uromyces Ceratocarpi* (auf *Ceratocarpus arenarius*), *Uromyces Kochiae* (auf *Kochia prostrata*), *Puccinia proximella* (auf *Chrysanthemum millefoliatum*), *Pucc. Trebouxii* (auf *Melica ciliata*), *Pucc. permixta* (auf *Diplachne serotina*), *Pucc. festucina* (auf *Festuca ovina*).

Die neue *Pucc. permixta* bildet ihre Aecidien, wie kulturell nachgewiesen wurde, auf verschiedenen *Allium*-Arten aus.

H. Sydow (Schöneberg).

Treboux, O., Beiträge zur Kenntnis der ostbaltischen Flora. VII. 1. Verzeichnis von parasitischen Pilzen aus dem Kreise Pernau. (Korrespondenzbl. d. Naturforscher-Ver. Riga. LV. p. 91—101.)

Eine größere Zahl von Arten ist für das Gebiet der Ostseeprovinzen neu. Viel größer ist die Anzahl derjenigen Arten, welche in diesen Provinzen auf neuen Wirtspflanzen auftreten. Im Verzeichnisse werden im ganzen 160 Arten aus diversen Pilzfamilien aufgezählt. Matouschek (Wien).

Naoumoff, N., *Materiaux pour la flore mycologique de la Russie*. (Bull. Soc. Mycol. France. T. 29. 1913. p. 273—278, 1 pl.)

Verf. gibt die Beschreibungen von einigen neuen parasitischen Pilzen aus Rußland:

Bremia graminicola n. sp. wird folgendermaßen charakterisiert: „Maculis primo lutescentibus dein fuscis, rubinde etiam totum folium occupantibus; caespitulis floccosis, albidis, dein griseis; conidiophoris hypophyllis, rarius epiphyllis, usque ad 600 μ alt., 9—10 μ diam., inferae in bulbo globoso inflatis superne 5—6 lices dichotomis, ramis rigidis alterne ultro citroque curvatis, ramulis ultimis in vesiculam inflatis, papillas 4 insidentibus. Conidiis fere globosis, uno apice quandoque leniter acuminatis, hyalinis, 12 μ diam. — Oosporis nondum cognitiss. — Hab.: in foliis vivis *Arthraxonis ciliaris* Beauv., in prov. Austro-Ussuriensi (Rossiae orient.)“. Auf diesem Pilz parasitiert wiederum ein *Cicinnobus*, *C. bremiphagus* n. sp., der ebenfalls näher beschrieben wird.

Eine weitere Art, welche bezüglich Form und Farbe des Stroma an *Polystigma*, bezüglich Form der Sporen an *Septoria* erinnert, wird zu einer neuen Gattung, *Rhodoseptoria*, gestellt. Diese Gattung wird folgendermaßen charakterisiert: „Stroma phyllogenum, subdiscoideum, convexo-concavum, carnulosum, ferru-

gineum, intus pluriloculare; pycnidiis ostiolo rotundo sursum pertusis; stylosporibus filiformibus, simplicibus, hyalinis.“ Die neue Art wird als *Rh. ussuriensis* N. Naum. bezeichnet; die Diagnose lautet: „Stroma 2—5 mm. lat., pycnidiis ovoideis vel sphaericis, 150—200×200—300 μ . Stylosporibus filiformibus, continuis, hyalinis, 35×1 μ ; conidiophoris clavatis, hyalinis, 15×1 μ . — Hab.: in foliis vivis fructibusque Pruni (manshuriacae) in prov. Austro-Ussuriensi (Rossia orient)“.

L a k o n (Tharandt).

Magnus, Paul, Zur Pilzflora Syriens. J. Bornmüller, Iter Syriacum. II. Fungi. (Mitteil. d. thüring. botan. Ver. N. F. Heft 28. p. 63—75. 1 Taf.)

Neu sind:

Schroeteria Bornmülleri u. sp. in den Samen von *Veronica biloba* L. (Libanon; von Schr. Decaisneana durch größere Sporen verschieden; Verf. bemerkte, daß alle drei *Schroeteria*-Arten, also auch *Schr. Delastrina*, sehr nahe verwandt sind), *Aecidium libanoticum* n. sp. (Libanon, auf *Asperula Libanotica* Boiss.). *Lupinus hirsutus* L. ist eine neue Wirtspflanze für *Uromyces* (speziell des *U. renovatus* Syd.) Verf. fand ferner einen *Uredo*, der zu einer wahrscheinlich neuen *Puccinia* auf *Picridium dichotomum* M. B., die er *Puccinia Picridii* n. sp. bezeichnet, gehört. Viele kritische Bemerkungen. *Puccinia Picridis strigosae* Syd. gehört vielleicht doch zu *P. Picridis* Haszl.

Matouschek (Wien).

Kasai, M., Contributions to the mycological Flora of Japan. III. On the Japanese Species of *Phragmidium*. (Trans. Sapporo Nat. hist. Soc. III. p. 27—51, w. 1 pl.).

I. Auf *Rosa* wurden gefunden: *Phragmidium fusiforme* Schroet. (wohl nur für Japan); *Phr. americanum* (Pk.) Diet. (mit Diagnose); *Phr. japonicum* Diet. (endemische Art); *Phr. Rosae multiflorae* Diet. (soll nach Verf. nicht mit *Phr. subcorticium* [Schrk.] vereinigt werden; eine endemische Art mit genauer Diagnose); *Phr. Rosae rugosae*, *Phr. yezoense* (neue Arten mit englischen Diagnosen).

II. Auf *Potentilla*: *Phr. Potentillae* (Pers.) Kst. (auf diversen Arten).

III. Auf *Sanguisorba*: *Phr. carbonarium* (Schlecht.) Wtz.

IV. Auf *Rubus*: *Phr. Rubi* (Pers.) Wint., *Phr. Rubi Idaei* (Pers.) (neu für Japan); *Phr. Barnardi* Plowr. et Wt., var. *pauciloculare* Diet., *Phr. griseum* Diet., *Phr. heterosporum* Diet., *Phr. Nambuianum* Diet., *Phr. Rubi Thunbergii* Kus., *Phr. Yoshinagai* Diet. (durchwegs endemische Arten); *Phr. Rubi japonici* (eine neue Art).

Matouschek (Wien).

Sydow, H. and P., Notes and Descriptions of Philippine Fungi. I. (Leaflets of Philippine Botany. Vol. 4. p. 1153—1159.)

Die Verff. geben einen kleinen Beitrag zur Kenntnis der fast noch gänzlich unerforschten Pilzflora der Philippinen-Inseln. Genannt werden meist parasitische Arten, von denen 11 (*Pseudomeliola*, 1 *Stigmatea*, 4 *Asterina*, 3 *Phyllachora*, 1 *Darwiniella*, 1 *Placosphaeria*) als neu beschrieben werden. H. Sydow (Schöneberg).

Patouillard, N., Quelques Champignons du Tonkin. (Bull. Soc. Mycol. France. T. 29. 1913. p. 206—228.)

Eine Aufzählung von zahlreichen parasitischen und saprophytischen Pilzen. Neu sind folgende Arten:

Heterochaete roseola (auf abgestorbener Rinde), *Porogramme Duporti* (auf kleinen abgestorbenen Zweigen), *P. camptogramma* (auf alten Bambusstämmen), *Ganoderma ostracodes* (auf Baumstümpfen), *Gyrodontium Eberhardti* (auf Pfählen), *Hygrophorus miniato-albus* (gruppenweise auf der Erde), *Pluteus minutus* (auf Rinde), *Rhodophyllus* (*Leptonia*) *submurinus* (auf der Erde im Gras), *Clitopilus crispus* (auf Waldboden), *Leucocoprinus dolichaulos* var. *cryptocyclus* n. var. (auf der Erde im Gras), *Agaricus iocephalus* (auf Erde in

lonis Pass. auf diversen Organen von *Cucumis Melo*), *Diplodia Betae* (auf *Beta vulgaris*), *Phleospora Caraganae* Jacz. nov. var. *Lathyri*, *Melanconium Czerniaiewi* (auf jungen Eichentrieben).

Die Arbeit bringt auch Ergänzungen zu den bestehenden Diagnosen vieler Arten und beschäftigt sich mit der Verbreitung der Arten besonders in Rußland. Matouschek (Wien).

Petroff, J. P., Die Pilze des Moskauer Distriktes. (Bull. d. Jard. impér. botan. de St. Pétersbourg. T. 11. p. 63—73.) [Russ.]

Eine Fortsetzung der Studien des Verf., also eine Fortsetzung des 1910, l. c., publizierten ersten Beitrages.

32 Pilze zählt er auf, darunter Schädlinge und Parasiten aus den Gruppen *Ustilagineae*, *Ascomycetes*, *Uredinales*, *Hymenomyces*, *Fungi imperfecti*. Neue Arten oder Formen werden nicht erwähnt. In einem Anhang gibt Verf. noch Bemerkungen zu 5 Nummern der im 1. Beitrage publizierten Pilzarten.

Matouschek (Wien).

Sydow, H. und P., Einige neue parasitische Pilze aus Rußland. (Annales Mycol. Vol. 10. p. 214—217.)

Enthält die Beschreibungen von:

Ustilago Trebouxii (auf *Melica ciliata* und *Triticum cristatum*), *Uromyces Ceratocarpi* (auf *Ceratocarpus arenarius*), *Uromyces Kochiae* (auf *Kochia prostrata*), *Puccinia proximella* (auf *Chrysanthemum millefoliatum*), *Pucc. Trebouxii* (auf *Melica ciliata*), *Pucc. permixta* (auf *Diplachne serotina*), *Pucc. festucina* (auf *Festuca ovina*).

Die neue *Pucc. permixta* bildet ihre Accidien, wie kulturell nachgewiesen wurde, auf verschiedenen *Allium*-Arten aus.

H. Sydow (Schöneberg).

Treboux, O., Beiträge zur Kenntnis der ostbaltischen Flora. VII. 1. Verzeichnis von parasitischen Pilzen aus dem Kreise Pernau. (Korrespondenzbl. d. Naturforscher-Ver. Riga. LV. p. 91—101.)

Eine größere Zahl von Arten ist für das Gebiet der Ostseeprovinzen neu. Viel größer ist die Anzahl derjenigen Arten, welche in diesen Provinzen auf neuen Wirtspflanzen auftreten. Im Verzeichnisse werden im ganzen 160 Arten aus diversen Pilzfamilien aufgezählt. Matouschek (Wien).

Naoumoff, N., Matériaux pour la flore mycologique de la Russie. (Bull. Soc. Mycol. France. T. 29. 1913. p. 273—278, 1 pl.)

Verf. gibt die Beschreibungen von einigen neuen parasitischen Pilzen aus Rußland:

Bremia graminicola n. sp. wird folgendermaßen charakterisiert: „Maculis primo lutescentibus dein fuscis, rubinde etiam totum folium occupantibus; caespitulis floccosis, albidis, dein griseis; conidiophoris hypophyllis, rarius epiphyllis, usque ad 600 μ alt., 9—10 μ diam., inferae in bulbo globoso inflatis superne 5—6 lices dichotomis, ramis rigidis alterne ultro citroque curvatis, ramulis ultimis in vesiculam inflatis, papillas 4 insidentibus. Conidiis fere globosis, uno apice quandoque leniter acuminatis, hyalinis, 12 μ diam. — Oosporis nondum cognitae. — Hab.: in foliis vivis *Arthraxonis ciliaris* Beauv., in prov. Austro-Ussuriensi (Rossiae orient.)“. Auf diesem Pilz parasitiert wiederum ein *Cicinobus*, *C. bremiphagus* n. sp., der ebenfalls näher beschrieben wird.

Eine weitere Art, welche bezüglich Form und Farbe des Stroma an *Polystigma*, bezüglich Form der Sporen an *Septoria* erinnert, wird zu einer neuen Gattung, *Rhodoseptoria*, gestellt. Diese Gattung wird folgendermaßen charakterisiert: „Stroma phyllogenum, subdiscoideum, convexo-concavum, carnulosum, ferru-

gineum, intus pluriloculare; pycnidiis ostiolo rotundo sursum pertusis; stylosporibus filiformibus, simplicibus, hyalinis.“ Die neue Art wird als *Rh. ussuriensis* N. Naum. bezeichnet; die Diagnose lautet: „Stroma 2—5 mm. lat., pycnidiis ovoideis vel sphaericis, 150—200×200—300 μ . Stylosporibus filiformibus, continuis, hyalinis, 35×1 μ ; conidio-phoris clavulatis, hyalinis, 15×1 μ . — Hab.: in foliis vivis fructibusque Pruni (manshuri-cae) in prov. Austro-Ussuriensi (Rossia orient)“.

Lakon (Tharandt).

Magnus, Paul, Zur Pilzflora Syriens. J. Bornmüller, Iter Syriacum. II. Fungi. (Mitteil. d. thüring. botan. Ver. N. F. Heft 28. p. 63—75. 1 Taf.)

Neu sind:

Schroeteria Bornmülleri u. sp. in den Samen von *Veronica biloba* L. (Libanon; von Schr. Decaisneana durch größere Sporen verschieden; Verf. bemerkte, daß alle drei *Schroeteria*-Arten, also auch Schr. Delastrina, sehr nahe verwandt sind), *Aecidium libanoticum* n. sp. (Libanon, auf *Asperula Libanotica* Boiss.). *Lupinus hirsutus* L. ist eine neue Wirtspflanze für *Uromyces* (speziell des *U. renovatus* Syd.) Verf. fand ferner einen *Uredo*, der zu einer wahrscheinlich neuen *Puccinia* auf *Picridium dichotomum* M. B., die er *Puccinia Picridi* n. sp. bezeichnet, gehört. Viele kritische Bemerkungen. *Puccinia Picridis strigosae* Syd. gehört vielleicht doch zu *P. Picridis* Haszl.

Matouschek (Wien).

Kasai, M., Contributions to the mycological Flora of Japan. III. On the Japanese Species of *Phragmidium*. (Trans. Sapporo Nat. hist. Soc. III. p. 27—51, w. 1 pl.)

I. Auf *Rosa* wurden gefunden: *Phragmidium fusiforme* Schroet. (wohl nur für Japan); *Phr. americanum* (Pk.) Diet. (mit Diagnose); *Phr. japonicum* Diet. (endemische Art); *Phr. Rosae multiflorae* Diet. (soll nach Verf. nicht mit *Phr. subcorticium* [Schrk.] vereinigt werden; eine endemische Art mit genauer Diagnose); *Phr. Rosae rugosae*, *Phr. yezoense* (neue Arten mit englischen Diagnosen).

II. Auf *Potentilla*: *Phr. Potentillae* (Pers.) Kst. (auf diversen Arten).

III. Auf *Sanguisorba*: *Phr. carbonarium* (Schlecht.) Wtz.

IV. Auf *Rubus*: *Phr. Rubi* (Pers.) Wint., *Phr. Rubi Idaei* (Pers.) (neu für Japan); *Phr. Barnardi* Plowr. et Wt., var. *pauciloculare* Diet., *Phr. griseum* Diet., *Phr. heterosporum* Diet., *Phr. Nambuianum* Diet., *Phr. Rubi Thunbergii* Kus., *Phr. Yoshinagai* Diet. (durchwegs endemische Arten); *Phr. Rubi japonici* (eine neue Art).

Matouschek (Wien).

Sydow, H. and P., Notes and Descriptions of Philippine Fungi. I. (Leaflets of Philippine Botany. Vol. 4. p. 1153—1159.)

Die Verff. geben einen kleinen Beitrag zur Kenntnis der fast noch gänzlich unerforschten Pilzflora der Philippinen-Inseln. Genannt werden meist parasitische Arten, von denen 11 (1 *Pseudomeliola*, 1 *Stigmatea*, 4 *Asterina*, 3 *Phyllachora*, 1 *Darwiniella*, 1 *Plaeosphaeria*) als neu beschrieben werden. H. Sydow (Schöneberg).

Patouillard, N., Quelques Champignons du Tonkin. (Bull. Soc. Mycol. France. T. 29. 1913. p. 206—228.)

Eine Aufzählung von zahlreichen parasitischen und saprophytischen Pilzen. Neu sind folgende Arten:

Heterochaete roseola (auf abgestorbener Rinde), *Porogramme Duporti* (auf kleinen abgestorbenen Zweigen), *P. camptogramma* (auf alten Bambusstämmen), *Ganoderma ostracodes* (auf Baumstümpfen), *Gyrodontium Eberhardti* (auf Pfählen), *Hygrophorus miniato-albus* (gruppenweise auf der Erde), *Pluteus minutus* (auf Rinde), *Rhodophyllus* (*Leptonia*) *submurinus* (auf der Erde im Gras), *Clitopilus crispus* (auf Waldboden), *Leucocoprinus dolichaulos* var. *cryptocyclus* n. var. (auf der Erde im Gras), *Agaricus ioccephalus* (auf Erde in

Bambushecken), *A. phaeocyclus* (auf der Erde), *A. rhopalopodius* (auf kultiviertem Boden), *Ascobolus Demangei* (auf der Erde), *Amphisphaeria stellata* (auf Bambushalmen), *Phylacia pusilla* (auf Rinde), *Nectria viridula*, *N. chrysolepis*, *N. gallifera*, *Torubiella tomentosa* var. *citrina* n. var. (auf Cocciden auf Bambusblättern), *Phylachora Meliae* (auf den Blättern von *Melia Azedarach*), *Volutella gossypina* (zerstreut, auf abgefallenen Blättern).

Agaricus (*Eutoloma*) *microcarpus* Berk. et M. (*Eutoloma microcarpus* Petch) gehört zu *Mycena*: *M. microcarpa* (Berk. et M.) Pat.

Verf. macht ferner bemerkenswerte Notizen über *Leucocoprinus Molybdites* (Mayer), *Rhacophyllus* Berk. et M. und *Phialea*.

Lakon (Tharandt).

Brenckle, J. F., *Fungi Dacotenses*. Fasc. 4. Leipzig (Theod. Osw. Weigel) 1910.

Der Inhalt dieses Faszikels, Nr. 76—100, ist folgender:

Aecidium abundans auf *Symphoricarpus occidentalis*; *Coleosporium Solidaginis* (Schw.) Thüm. auf *Solidago Canadensis*; *Cronartium Comandrae* Fk. auf *Comandra pallida*; *Melampsora Medusae* Thüm. auf *Populus deltoides*; *Puccinia amphigena* Diet. auf *Calamovilfa longifolia*; *P. Crandallii* Pam. et Hume auf *Festuca ovina*; *P. Koeleriae* Arth. auf *Koeleria cristata*; *P. pustulata* (Pk.) Arth. auf *Andropogon furcatus*; *P. substerilis* Ell. et Ever. auf *Stipa viridula*; *Pucciniastrum Agrimoniae* (Sch.) Tranz. auf *Agrimonia hirsutus*; *Sclerospora graminicola* (Sacc.) Schr. auf *Panicum viridis*; *Uromyces appendiculatus* (Pers.) Ung. auf *Phaseolus nanus*; *Uropyxis amorphae* (Curt.) Schroet. auf *Amorpha canescens*; *U. petalostemontia* (Farl.) Det. auf *Kunistera candida*; *Ustilago avena* var. *levis* Kell. et Swin. auf *Avena sativa*; *U. Panici miliacei* (Pers.) Wint. auf *Panicum miliaceum*; *Exoascus Pruni* Fckl. auf *Prunus Americanus*; *Plowrightia morbosa* Sacc. auf *Prunus* sp.; *Oothia Symphoricarpi* auf *Symphoricarpus occidentalis* Ell. et Ever.; *Rosellinia pulveracea* (Ehr.) Sacc. und *Zignella Morthieri* (Fckl.) Sacc. auf derselben Pflanze.

Die Nr. 92—95 sind Arten der Gattungen *Bovista* u. *Lycoperdon*.

Matouschek (Wien.)

Clements, F. E., *Nova Fungorum coloradensium genera*. (Minnesota. Bot. Studies. Part. II. Vol. 4. p. 185—188. 1 tabl.)

1. Auf *Ipomoea leptophylla* tritt *Comaclathris Ipomoeae* n. g. n. sp., auf Stengeln von *Leptotaenia multifida* *Clanata* n. g. n. sp. auf. Das neue Genus ist eine behaarte *Clathrospora*.

2. Auf Wurzeln von *Betula occidentalis* tritt *Pezoloma griseum* n. g. n. sp. auf. Das neue Genus ist eine sitzende *Cyathicula*.

3. Auf Ästen von *Populus tremuloides* tritt *Sirodothis Populi* n. g. n. sp. auf. Die neue Gattung ist eine *Dothiorella* mit in Ketten sich absondernden Sporen.

4. An Stengeln von *Pedicularis racemosa* tritt *Sirocypthis nivea* n. g. n. sp. auf. Vielleicht eine behaarte *Sirozythia*.

5. *Leucopezis excipulata* auf moosiger Erde und *Phalothrix hyalotricha* (Rehm) Clements n. g. ist eine einzellige und glänzende Haare besitzende *Dasyscypha*. Matouschek (Wien).

Peck, Ch. H., Report of the State Botanist 1911. (New York State Mus. Bull. No. 157. 116 pp. with tab.)

Aus dem Staate New York wurden als neu beschrieben:

Ascochyta imperfecta auf *Medicago sativa*; *Cercospora terminalis* auf *Veratrum viride*; *Phoma bacteriophila* auf *Pinus Strobus*; *Ph. leprosa* auf Früchten von *Crataegus punctata*; *Septoria mirabilissima* auf *Pinus Strobus*; *Teichospora trimorpha* Atk. auf *Populus*; *Vermicularia hysteriiformis* auf *Caulophyllum thalictroides*; *Ustilago Osmundae* Peck. nov. var. *cinnamomeae* wird mit dem Typus zu *Mycosyrinx* gestellt.

Aus anderen Staaten N.-Amerikas (auch Cuba) wurden als neu beschrieben:

Cercospora Eustomae, *C. mirabilis* auf *Crataegus rivularis*, *Coryneum Sorbi*, *Dermatea Mori*, *Diaporthe inornata* auf *Rhus typhina*, *Diplodia polygonicola*, *Entoloma subtruncatum*, *Gloeosporium Psoraleae*, *Hermingsinia caespitosa*, *Hysterium cubense*, *Leptonia Davisiana*, *Leptostromella scirpina*, *Macrophoma Burserae*, *M. numerosa* auf *Robinia pseudacacia*, *Ovularia avicularis* auf *Polygonum aviculare*, *Paxillus microsporus*, *Phoma Roystoneae*, *Septoria magnospora* auf *Prunus Fremontii*.

Matouschek (Wien).

Patouillard, N., Quelques Champignons du Costa-Rica. (Bull. Soc. myc. France. T. 28. p. 140—143.)

In Costarica wurden folgende Pilze aufgefunden:

Uromyces Cestri Mont. var. *maculans* nov. var. auf einer *Cestrum*-Art in der Nähe von San José; *Puccinia Elephantopodis-spicati* nov. sp. auf lebenden Blättern von *Elephantopus spicatus* in San-Francisco de Guadalupe; *Stereum ferreum* Berk et Curt.; *Podoscypha aurantiaca* (Pers.); *Stigmatea Cestri* nov. sp. auf lebenden Blättern einer *Cestrum*-Art, San-José; *Phyllachora gentilis* Speg. var. *Calyptanthus* nov. var. auf den Blättern und Früchten von *Calyptanthus Tonduzii*, San-José; *Phyllachora gratissima* Rhem. auf den Blättern von *Persea gratissima*, San-José; *Cercospora Hymenocallidis* nov. sp. auf *Hymenocallis littoralis* Salisb., im Museumsgarten von San-José; *Microcera Tonduzii* nov. sp. auf Cocciden-Larven an den Blättern von *Ficus*, San-José; *Tubercularia Agaves* nov. sp. auf *Agave*-Blättern, San-José; *Epicoccum asterinum* nov. sp. auf den lebenden Blättern von *Yucca elephantipes*, San-Francisco de Guadalupe.

Lakon (Tharandt).

de Wildeman, E., Documents pour l'étude de la géobotanique congolaise. (Bull. Soc. Royale de Bot. de Belgique. T. 51. 1913. Vol. jubilaire. Fasc. 3.)

Dans ce volumineux et savant travail, il y a quelques renseignements sur l'existence de Champignons au Congo belge, nous en donnons la nomenclature: Dans la florule des environs de Beni (district de la Forêt équatoriale) de W. signale *Trichamphora pezizoidea* Jungh., *Polystictus sacer* Fr., *P. callisteus* Syd., *Aecidium atroalbum* P. Henn., *Teichospora callimorpha* Syd., *Zignoella Buettneri* Rehm., *Oidium erysiphoides* Fr. Dans la florule de la région de Yambuya et dans la région de Buta-Bima: *Mycosyrinx Cissi* (D. C.) Berk. Dans le district du Lac Albert-Edouard et du Ruwenzori, sur le Ninagongo on signale: *Melampsora Lini* (D. C.) Tul., *Aecidium senegionis bupleuroidis* Syd., *Physalospora Bersamae* Syd. Dans le district des Grands Lacs, on a signalé *Oidium erysiphoides* Fr.

Kufferath (Bruxelles).

Sydow, H. und P., Beschreibungen neuer südafrikanischer Pilze. (Annal. Mycolog. Vol. 10. p. 33—45, 3 Fig.)

Die beschriebenen zahlreichen Novitäten sind fast durchweg parasi

tische Pilze, von denen einige besonders hervorgehoben zu werden verdienen. Das schwarze *Septobasidium protractum* befällt im nördlichen Transvaal lebende Akazienzweige. Die stattliche Anzahl der südafrikanischen *Hemileia*-Arten wird durch 2 neue Species auf *Tricalysia* und *Fadogia* vergrößert. *Aecidium Metalasiae* ruft an den Ästen der Nährpflanze krebsartige Geschwülste hervor, auf denen die langzylindrischen Aecidienbecher sitzen. Das neue *Entyloma Dahliae* auf *Dahlia variabilis* aus Natal ist besonders auffallend. *Parodiella congregata* an *Limnanthemum*-Blättern gleicht habituell täuschend einer *Doassansia*. Eine neue *Clypeosphaeriaceen*-Gattung ist *Teratosphaeria* auf *Protea grandiflora*, charakterisiert durch die eigenartige Wachstumsweise der Perithezien. Die neue *Myrangiaceen*-Gattung *Ascostratum* lebt auf der dicken Rinde einer *Euphorbia*. *Linochorella striiformis* nov. gen. et spec. befällt das Gras *Heteropogon*. An dem kosmopolitischen *Cynodon Dactylon* wurde eine neue *Cerebella* aufgefunden.

H. Sydow (Schöneberg).

Lettau, G., Beiträge zur Lichenographie von Thüringen. (Hedwigia. 52. p. 176—220; 53. p. 81—264.)

Die Arbeit enthält u. a. eine Liste von 32 auf Flechten parasitierenden oder Krustenflechten ähnlichen Pilzen, die Verf. beim Sammeln der thüringischen Lichenes gelegentlich mit beobachtet hat. Einige derselben werden näher beschrieben.

W. Herter (Porto Alegre).

Lettau, G., Beiträge zur Lichenenflora von Ost- und Westpreußen. (Festschr. z. 50jähr. Bestehen d. Preuß. Bot. Ver. 1912. p. 17—91.)

Anhangsweise wird ein Verzeichnis von 36 flechtenähnlichen und auf Flechten parasitierenden Pilzen gegeben.

W. Herter (Porto Alegre).

Lindau, G., Eine neue *Belonium*-Art aus Neu-Guinea. (Hedwigia. Bd. 51. p. 327—328.)

G. Brause fand auf den äußersten Spitzen der Rhizomschuppen von *Polypodium iboense* Brause auf Neu-Guinea (1000 m) einen Pilz, den Verf. als *Belonium Brauseanum* n. sp. beschreibt. Alle übrigen Arten dieses Ascomyzeten haben viel längere Sporen und kommen nur auf höheren Pflanzen vor.

Matouschek (Wien).

Vuillemin, P., Revue annuelle de Mycologie. (Rev. génér. d. scienc. Année 24. 1913. p. 183—199.)

V. passe en revue les progrès de la Systématique et donne une revue des principaux groupes de Champignon. On devra consulter ce travail, les détails étant trop nombreux.

Kufferath (Bruxelles).

v. Keissler, K., Über die Gattung *Symphysira*. (Mykol. Centralbl. Bd. 2. 1913. p. 321—325.)

Die von Preuß begründete Gattung *Symphysira* besaß bisher drei Arten. Verf. fand in Steiermark auf dem Erdboden eine neue Art, *S. rosea*, von der er eine genaue Beschreibung gibt. Die Gattung war in bezug auf ihren Bau nicht recht klar, da die Beschreibung der ältesten Art, *S. lutea*, sehr unvollständig ist. Durch den Verf. ist jetzt sicher,

daß das *Koremium* sehr lang ist, oben ein fast kugliges Köpfchen trägt, das in Hyphen auseinander geht, die am Ende stäbchenförmige, drei- bis mehrzellige Sporen tragen. Mit der *S. lutea* stimmt *S. alba* Karst. überein, so daß als 3. Spezies nur noch die parasitische Art *S. parasitica* Mass. et Crossl. zur Gattung gehört.
Lindau (Berlin).

Sartory, A. et Bainier, G., Étude morphologique et biologique d'un champignon nouveau du genre *Gymnoascus*, *Gymnoascus confluens* n. sp. (Bull. Soc. Mycol. France. T. 29. 1913. p. 261—272, 1 pl.)

Der neue Pilz, welcher auf Hundexkrementen und auf den Kronblättern der Sternblume aufgefunden wurde, bietet einige sehr interessante morphologische und biologische Eigentümlichkeiten. Er wächst fast auf allen in der Mykologie üblichen flüssigen und festen Nährsubstraten. Durch den Pilz wird die Milch durch Ausfällen des Kaseins koaguliert, die Gelatine verflüssigt. Auf Eiweiß, Gelose und Reisstärke bleibt er dagegen ohne Einfluß. Sein Kulturoptimum beträgt ca. + 24—25° C. Der Pilz bildet ein orangerotes Pigment, welches die Hände so energisch färbt, daß es sich sehr schwer wieder entfernen läßt. Dieses Pigment ist in Wasser, Alkoholen, Äther usw. löslich, wird durch starke Säuren und konzentrierte Alkalien, sowie die üblichen Bleichmittel, wie Chlor usw. entfärbt, während die organischen Säuren auf dasselbe ohne deutlichen Einfluß sind. Die spektroskopische Analyse zeigte eine Absorption der rechten Hälfte von der Linie D ab.
Lakon (Tharandt).

Martin, Ch. Ed., Les quatre *Cordyceps* de la flore mycologique suisse. (Bull. de la soc. bot. de Genève. Sér. II. T. 4. p. 375.)

Zu den aus der Schweiz schon bekannten Arten *Cordyceps ophioglossoides* Lk., *C. militaris* Lk., *C. alutacea* Pers. gesellt sich als vierter Bürger *C. capitata* (Holmsk.) Fr. (zwischen Croix und Tour).
Matouschek (Wien).

Arnaud, G., Sur les genres *Zopfia*, *Richonia* et *Caryospora*. (Bull. Soc. Mycol. France. T. 29. 1913. p. 253—260, 1 pl., 2 Fig.)

Verf. studierte folgende Arten: *Zopfia rhizophila* Rabenh. (an den Wurzeln von *Asparagus*), *Zopfia Boudieri* nov. sp. (an den Wurzeln von *Ligustrum vulgare* L.), *Richonia variopora* Boud. (an den Wurzeln von *Asparagus*) und *Caryospora putaminum* (Schwein.) de Kot. (auf faulenden Pfirsichkernen).

Die ersten drei Arten gehören zur Gattung *Zopfia*; *Richonia variopora* ist demnach als *Zopfia variopora* (Boud.) Arn. zu bezeichnen. Die Eigentümlichkeiten dieser Gattung sind so groß, daß die Bildung einer besonderen Familie der *Zopfiaceae* gerechtfertigt erscheint. Die wichtigsten Charaktere dieser Familie sind folgende: 1. Die Anordnung der Asci, welche im Mittelpunkt des Peritheciums inseriert sind und nach der Peripherie zu ausstrahlen. 2. Die Beschaffenheit der Peritheciwandung und der Gleba. 3. Das Fehlen einer inneren Höhlung und des Ostiolums.

Die Gruppe nähert sich den Tuberaceen und zwar durch den Standort, die Beschaffenheit der Wandung und die Fortdauer der Gleba, die Schwan-

kung in der Anzahl der Sporen im Ascus. Sie zeichnet sich auch durch den einfachen Bau des Hymeniums, die Konsistenz der Peritheciengewandung, die großen und septierten Ascosporen (bei *Z. Boudieri* sind sie manchmal einzellig).

Caryospora putaminum muß trotz der großen Analogie mit *Zopfia* von dieser getrennt gehalten werden, da diese Art eine andere Anordnung der Asci aufweist und ein Ostiolum besitzt.

Die *Zopfia*-Arten sind entweder Saprophyten oder nur ungefährliche Parasiten und haben daher kein großes phytopathologisches Interesse.

Die Diagnose der neuen *Zopfia Boudieri* lautet: „Peritheciis sparsis, globosis, magnitudine variis, 0,5—1,25 mm. diam., rugulosis, nigris, Ascis clavatis, ad basim vix attenuatis, apice rotundatis, magnitudine variis, plerumque 1—5 sporis. Ascosporis grandis plerumque medio septatis, constrictis, 40—52×25—32 μ , vel rarius continuis (25—32 μ diam.) utrinque perfecte rotundatis, tuberculosus, atro fuscis. — Hab. ad radices Ligustri vulgaris, Montpellier, Gallia meridionalis.“
L a k o n (Tharandt).

Bally, W., Die Chytridineen im Lichte der neueren Kernforschung. (Mykol. Centralbl. Bd. II. 1913. p. 289—297.)

Verf. bespricht kritisch die in den letzten zwei Jahren erschienenen Arbeiten über Chytridiaceen, mit besonderer Berücksichtigung der Keimverhältnisse.
L i n d a u (Berlin).

Brown, H. B., Studies in the Development of *Xylaria*. (Annal. mycol. Vol. 11. 1913. p. 1—13, 2 tab.)

Genauer wird die nordamerikanische Art *Xylaria tentaculata* untersucht. Die Konidienträger entstehen an der Spitze des Stromas als seitliche Auszweigungen von Hyphen, meist sind sie unverzweigt und vergehen, sobald an der Spitze die Konidien gebildet worden sind. Unmittelbar nach der Konidienbildung beginnt die Entwicklung der zahlreichen Peritheciengewandung. Sie erfolgt durch reichliche Verflechtung von Hyphen unterhalb der Stromaoberfläche. Es bildet sich im Zentrum der Anlage die askogene Hyphe heraus, die sich schließlich reichlich verzweigt und die Schläuche hervorzunehmen läßt. Zuerst hat das Askogon einen Kern, der sich aber in dem Maße teilt, wie Schläuche gebildet werden. Die Teilung der Kerne erfolgt in der gewöhnlichen Weise, aber Einzelheiten ließen sich bei der Kleinheit nicht feststellen.
L i n d a u (Berlin).

Spaulding, P., Notes on *Cronartium comptoniae*. (Phytopath. Vol. 3. 1913. p. 62.)

Verf. infizierte mit einem *Peridermium* von *Pinus silvestris* und *P. ponderosa* mit Erfolg *Comptonia asplenifolia*.
R i e h m (Berlin-Dahlem).

Shear, C. L. and Wood, A. K., Studies of fungous Parasites belonging to the Genus *Glomerella*. (U. S. Dep. of Agric. Bur. of Plant. Industr. Bull. No. 252. 1913.)

Verff. isolierten Gloeosporien von folgenden Wirtspflanzen: *Brya ebenus**, *Caryota rumphiana**, *Cinnamomum zeylanicum*, *Citrus aurantium sinensis**, *C. decumana*, *C. limonum**, *C. nobilis**, *Coffea arabica**, *Costus speciosus*, *Curculigo spec.**, *Eriobotrya japonica**, *Ficus*

carica, *F. elastica*, *F. longifolia*, *Ginkgo biloba*, *Gleditschia triacanthos*, *Kentia spec.**, *Ligustrum vulgare*, *Malus silvestris*, *Mangifera spec.**, *Maranta arundinacea**, *Oxycoccus macrocarpus**, *Persea gratissima*, *Phormium tenax*, *Pimenta acris**, *Piper macrophyllum*, *Pitcairnia corallina**, *Psidium guajava**, *Ribes oxycanthoides*, *Rubus occidentalis*, *Thea japonica*, *T. sinensis**, *Theobroma cacao**, *Vitis labrusca*. In Kultur bildeten sich Perithezien (bei den mit * bezeichneten Pflanzen fand die Perithezienbildung des Pilzes nicht in Kultur, sondern nur an der Wirtspflanze statt), die als *Glomerella cingulata* (Stonem.) S. and v. S. bestimmt wurden. Auch die von *Annona cherimola*, *Crataegus spec.*, *Rubus trivialis*, *Smilax medica* und *Vanilla planifolia* isolierten Gloeosporien gehörten zu *Glomerella cingulata*; diese Pilze konnten aber nicht zur Perithezienbildung gebracht werden.

Außer dem isolierten die Verff. *Glomerella gossypii* Edg. von *Gossypium hirsutum*, *G. lindemuthianum* Shear von *Phaseolus vulgaris*, *Gloeosporium lagenarium* (Pass.) Sacc. and Roum von *Citrullus vulgaris*, *Cucumis sativus* und *Cucurbita pepo* und *G. musarum* Cke. and Mass. von *Musa paradisiaca sapientium*; bei den beiden letztgenannten Gloeosporien konnte keine Perithezienbildung beobachtet werden.

In Reinkultur reiner Linien von *Glomerella cingulata* zeigte sich, daß der Pilz in allen seinen Charakteren außerordentlich variabel ist. Die Konidien entstehen bald einzeln an zerstreut stehenden Trägern, bald in dichten Lagern, in einem Fall wurden aufrecht stehende Konidienträger beobachtet, die makroskopisch an *Verticillium* erinnerten. Borsten sind an den Konidienlagern bald vorhanden, bald fehlen sie, Appressorien und Chlamydosporen wechseln in Größe und Gestalt, Perithezien variieren in Form und Größe usw. Die Ursache dieser Variation wurde von den Verff. nicht ermittelt. Die Fähigkeit, Perithezien zu bilden, ist nach Ansicht der Verff. eine wohl fixierte, erbliche Eigenschaft einzelner Pilzrassen.

Auf die zahlreichen Infektionsversuche der Verff. kann ich nicht näher eingehen, ebensowenig auf die detaillierten Angaben über das Verhalten der von den verschiedenen Wirtspflanzen isolierten Gloeosporien in Kultur; dagegen soll noch mit einigen Worten das Schlußkapitel über den Parasitismus von *Glomerella* gestreift werden. *Glomerella* ist in einzelnen Rassen und unter gewissen Bedingungen ein ausgesprochener Parasit. Dafür spricht schon das Vorkommen von in den Samen überwinternden Hyphen (Baumwoll- und Bohnen-Anthraknose), sowie das Vorkommen von Hyphen in perennierenden Trieben und in immergrünen Blättern. Die Tatsache, daß der Pilz in künstlicher Kultur gut wächst und auf Agarböden Perithezien bildet, spricht natürlich in keiner Weise gegen den Parasitismus des Pilzes, bilden doch auch zahlreiche, als Parasiten wohlbekannte *Pyrenomyces* ihre Perithezien nur auf den abgestorbenen Teilen der Wirtspflanze aus.

Rieh m (Berlin-Dahlem).

Chevalier, H., *Agaricus melleus*. (Bull. hort., agric. et apic. 1913. p. 110.)

Article de vulgarisation, conseils pratiques pour la destruction de ce champignon.
Kufferath (Bruxelles).

Murrill, W. A., The Agaricaceae of the Pacific Coast. IV. New species of *Clitocybe* and *Melanoleuca*. (Mycologia. Vol. 5. 1913. p. 206.)

Die Arbeit enthält Beschreibungen 21 neuer *Clitocybe*- und 25 neuer *Melanoleuca*-Arten. Rieh m (Berlin-Dahlem).

Massee, G., Fungi exotici. XII. (Bull. of misc. Inform. Kew. 1911. p. 223—226, w. pl.)

Beschreibung folgender elf neuer meist parasitischer Pilze aus Malesien, dem tropischen Afrika, Natal und Queensland:

Agaricaceae: *Clitocybe egregia*: Singapore;

Ustilagineen: **Ustilago trichopterygis* auf *Trichopteryx hordeiformis* Stapf: Nigeria; *U. polytriadis* auf *Polytrias praemorsa* Hack.: Malacca; *U. vastatoria* auf *Panicum* sp.?: Baghirmi;

Uredineen: *Puccinia cymbopogonis* auf *Cymbopogon citratus* Stapf: Uganda; *P. pulvinata* und **Aecidium osyridocarpi* auf *Osyridocarpus natalensis* D. C.: Natal;

Sphaeriaceen: **Balansia sessilis* auf *Ichnanthus* sp.?: Malesien: Johor; **B. asperata* auf *I. pallens* Munro: Malesien: Johor; *Gibbera tinctoria* auf *Manotes glaber*: Rhodesia;

Hyphomycet: *Hainesia aurantiaca* auf *Endianda insignis* Bailey, Queensland.

Die mit * versehenen Arten sind abgebildet.

W. Herter (Tegel).

Thaxter, Roland, Preliminary Descriptions of new Species of *Rickia* and *Trenomyces*. (Proc. of the Am. Ac. of Arts & Scienc. Vol. XLVIII. p. 365—386.)

Die hier beschriebenen Arten des Laboulbeniaceen-Genus *Rickia* kommen parasitisch auf Milben vor.

Rickia furcata n. sp. auf *Euzercon*, Trinidad, Manaos, Amazon, Grenada; *R. arachaoidea* n. sp. auf *Discopoma*, *Trychyuropoda*, und auf *Euzercon*, Trinidad; *R. anomala* n. sp. auf *Iphiopsis*! Trinidad; *R. Discopomae* n. sp. auf *Discopoma*, Peradenyia, Ceylon; *R. elegans* n. sp. auf *Discopoma*, Peradenyia, Ceylon; *R. cristata* n. sp. auf einer an *Priocelis* sp. schmarotzenden Milbe einer neuen *Cilliba* nahestehenden Gattung, Kamerun; *R. pulchra* n. sp. auf *Macrocheles* sp. und *Celaenopsis* sp., Kamerun; *R. obcordata* n. sp. auf einer kleinen Milbe, Kamerun; *R. elliptica* n. sp. auf *Discopoma* sp., Trinidad; *R. inclinata* n. sp. auf einer unbestimmten Milbe, Trinidad; *R. Celaenopsis* n. sp. auf *Celaenopsis* sp., Trinidad; *R. discreta* n. sp. auf einer *Gamaside*, Trinidad; *R. spathulata* n. sp. auf *Celaenopsis* sp., Amazon; *R. excavata* n. sp. auf *Celaenopsis* sp., Trinidad; *R. Euzerconalis* n. sp. auf *Euzercon* spp., Trinidad; *R. Megisthani* n. sp., auf *Megisthanus* sp., Trinidad; *R. Megisthani* var. *Trachyuropoda* n. var. auf *Trachyuropoda*, Itacoatiara, Amazon und Trinidad; *R. Kameruna* n. sp. auf *Euzercon* sp., Kamerun; *R. filifera* n. sp. auf einer *Megiothanus* verwandten Milbe, Kamerun.

Die Gattung *Trenomyces* wurde zuerst von Chatton in Frankreich an Federläusen (*Mallophaga*) entdeckt. Verf. erhielt sodann Arten aus Elbing, Preußen, Neapel, Neu-England und verschiedenen Teilen Nordamerikas. Die Gattung steht *Dimeromyces* und *Dimorphomyces* nahe. *Trenomyces histophorus* Chat. et Picard erhielt Verf. aus Frankreich, Italien, Deutschland, auf *Menopon* und *Goniocotes*, aus Kittery Point, Maine und Newton Mass auf *Menopon* sp., ebenso aus Bahama, Jamaika, Guatemala (*Menopon mesoleucum*), Kalifornien, Iowa (*M. tridens*).

Eine davon wahrscheinlich verschiedene Art fand sich auf *Nirmus punctatus*, *N. maritimus*, *N. olivaceus*. Von neuen Arten beschreibt Verf.: *Trenomyces Lipeuri* auf *Lipeurus* sp. von Bussard Los

Amates, Guatemala; auf *Lipeurus celer*, Kalifornien. *T. Laemobothrii* auf *Laemobothrium atrum* vom Wasserhuhn, Neu-England. *T. circinans* auf *Lipeurus* an Tauben, Kingston; *Lipeurus baculus*, Elbing; *Docophorus Californicus*, Kalifornien; *D. Monteregi*. *T. gibbus* auf *Lipeurus longipilus*, Kalifornien.
F. Ludwig (Greiz).

Thaxter, Roland, New or critical Laboulbeniales from the Argentine. (Proceed. of the Amer. Acad. of Arts a. Scienc. Vol. XLVIII. 1912. p. 155—223.)

Es werden die folgenden Arten von Laboulbeniaceen beschrieben:

Dimeromyces Anisolabis n. sp. auf *Anisolabis annulipes* Luc., Palermo; *D. Corynitis* n. sp. auf *Corynites ruficollis* Fabr., La Plata; *Dimorphomyces Meronevae* n. sp. auf *Meroneva Sharpi* L., Argentinien, Temperley; *D. verticalis* n. sp. auf *Atteta* sp., Palermo; *Rickia Lisspini* n. sp. auf *Lispinus tenellus* Er., Llavallo, Los Amatos, Guatemala; *R. Melanophthalmae* n. sp. auf *Melanophthalma* sp. Llavallo; *Monicoomyces Caloderae* n. sp. auf *Calodera* sp., Palermo, Temperley, Llavallo; *M. infuscatus* Speg. auf *Xantholinus Andinus* Fano., Palermo, Llavallo; *Mimeomyces decipiens* n. g. n. sp. auf *Quedius sorecocephalus* Bernh., Llavallo; *Cantharomyces permasculus* n. sp. auf *Parnus*-Arten, Palermo; *C. Ophioglossae* n. sp. auf *Ophioglossa* sp. Llavallo Tucuman, Santa Catalina; *C. Platensis* n. sp. auf *Parnus*?, Palermo; *A. morphomyces rubescens* n. sp. auf *Diestota* sp. auf *Homalota* sp., Temperley und Llavallo; *Tetrandromyces* (n. gen.) *Brachidae* n. sp. auf *B. Reyi* Shp., Llavallo; *Dioicomyces* n. sp. auf *Formicella strangulata* Pic., Palermo, Llavallo und Temperley; *D. malleolaris* n. sp. auf *Anthicus parvus* Pic., Palermo und Llavallo; *D. umbonatus* n. sp. auf *Anthicus parvus* Pic., Temperley; *D. angularis* n. sp. auf *Anthicus parvus* Pic., Temperley und Llavallo; *Autophagomyces* (n. g.) *Platensis* n. sp. auf *Tomoderus forticornis* Pic., Llavallo; *A. nigripes* n. sp., ebenda; *Cryptandromyces* (n. g.) *geniculatus* n. sp. auf *Connophron* n. sp., Temperley; *Synandromyces* (n. g.) *Telephani* n. sp. auf *Telephanus* sp., Temperley und Llavallo; *S. geniculatus* n. sp. auf *Telephanus* sp., Temperley und Llavallo; *Stigmatomyces Anoplischii* n. sp. auf *Anoplischius* sp., Buenos Aires, La Plata; *Zeugandromyces* (n. g.) *australis* n. sp. auf *Scopaeus laevis* Sharp., Palermo; *Corethromyces Argentinus* n. sp. auf *Cryptobium* sp., Palermo; *C. Ophitis* n. sp. auf *Ophitis Fanelii*, Palermo; *C. Platensis* n. sp. und var. *gracilis* n. var. auf *Lathrobium nitidum* Er., Palermo, Temperley, Llavallo; *C. Scopaei* n. sp. auf *Scopaeus frater* Lynch, Palermo; *C. brunneolus* n. sp. auf *Stilicus* sp., Temperley; *C. stilicolus* nov. comb. = *Stichomyces Stilicolus* Thaxter; *C. pygmaeus* n. sp. auf *Stilicus* sp., Palermo; *C. sigmoideus* n. sp. auf *St. elegans* Lynch, Llavallo; *Corethromyces uncigerus* n. sp. auf *Stilicuselegans* Lynch, Llavallo; *C. armatus* n. sp. auf *Stilicus* sp., Palermo, Temperley, Tucuman; *C. rhinoceralis* n. sp. auf *Pinophilus suffusus* Er., Llavallo; *C. macropus* n. sp. auf *Heterothaps* n. sp., Llavallo; *C. rostratus* n. sp. auf *Heterothaps* sp. Temperley; *Stichomyces Catalinae* n. sp. auf *Conosoma testarum* Lat., Llavallo; *Laboulbenia Lathropini* n. sp. auf *Lathropinus fulvipes* Er., Llavallo; *L. funerea* Speg. auf *Anaedus*, Buenos Aires (Sta. Catalina), wahrscheinlich Var. von *L. polyphaga*; *L. hemipteralis* n. sp. auf *Velia Platensis* Berg. Palermo; *L. Veliae* n. sp. auf *Velia Platensis* Berg., Palermo; *L. Lacticae* n. sp. auf *Lactica varicornis* Jac., Palermo; *L. Blechsi* Speg. n. sp. auf *Blechrus* sp., Llavallo; *L. Monocrepidii* n. sp. auf *Monocrepidius* sp., Palermo; *L. fuscata* n. sp. auf *Pterostichus* sp., Buenos Aires; *L. granulosa* n. sp. auf *Argutor Bonariensis* Dij., Insel Santiago; *L. subinflata* n. sp. auf *Argutor Bonariensis* Dij., Buenos Aires, Llavallo; *L. Bonariensis* n. sp. auf *Argutor Bonariensis* Dij., Llavallo; *L. lutesceus* n. sp. auf *Argutor Bonariensis* Dij., Buenos Aires, Temperley, Llavallo; *L. asperata* n. sp. auf *Tachys* sp., Palermo; *L. australis* n. sp. auf *Apenes* sp., Tucuman; *L. flexata* n. sp. auf *Brachinus* sp., Santiago, La Plata; *L. in-*

8*

flecta n. sp. auf *Galerita*, La Plata; *L. marginata* n. sp. auf *Galerita Lacordairii*, Argentinien; *L. sordida* n. sp. auf *Galerita* sp., La Plata; *L. Heteroceratis* n. sp. auf *Heteroceros* La Plata, Kausas; *L. fune-ralis* n. sp. auf *Gyrinus*, Palermo; *Rhachomyces Argentinus* n. sp. auf einem kleinen Käfer *Casponia*, verwandt *Juguy* N.-Argentinien; *Scaphi-diomycetes* (n. g.) *Baeocerae* n. sp. auf *Baeocera* n. sp., Llavallol; *Scelo-phoromyces* (n. g.) *Osorianus* n. sp. auf *Osorius sexpunctatus* Bernh., Palermo, Santiago, La Plata; *Ecteinomyces filarius* n. sp. auf *Coproporus rutilus* Er., Tucuman; *E. thinocharinus* n. sp. auf *Thino-charis exilis* Er., Temperley; *E. Copropori* n. sp. auf *Coproporus ru-tilus*, Tucuman, Guatemala; *Autoicomycetes bicornis* n. sp. auf *Berosus* sp., Palermo; *Ceratomyces rhizophorus* n. sp. auf *Tropisternus* sp., Palermo; *C. ventricosus* n. sp. auf *Tropisternus* sp., Palermo; *C. mar-ginalis* n. sp. auf *Tropisternus* sp. (?), Palermo; *C. intermedius* n. sp. auf *Tropisternus* sp., Palermo; *Synaptomyces* (n. g.) *Argentinus* n. sp. auf *Hydrocharis* sp., Palermo.

F. Ludwig (Greiz).

Spegazzini, Carlos, Contribución al estudio de las Laboulbeniomycetas Argentinas. (Anales del Museo Nacion. de Hist. Natur. de Buenos Aires. T. 23. 1912. p. 167—244.)

Ein dichotomischer Bestimmungsschlüssel aller Gattungen wird entworfen. Nachgewiesen sind durch den Verf. fürs Gebiet im ganzen 65 Arten. Neu, mit lateinischen Diagnosen, werden beschrieben:

Cantharomyces Bruchi, *Cochliomyces* (n. g.) *argentinensis*, *Corethromyces xantholini*, *Dichomyces argentinensis*, *Dimorphomyces argentinensis*, *Eumonoicomycetes argentinensis*, *Laboulbeniella* (n. g.) *dysonichae*, *tucumanensis*, *homophoetae*, *Monoicomycetes infuscatus*, *Rhacomycetes* sp., *Sphaleromyces Bruchi*, *Laboulbenia antarctiae*, *asperula*, *blechri*, *chlaenii*, *dailodonti*, *elegantissima*, *funerea*, *Leathsi*, *leptostoma*, *missionum*, *oedipus*, *oodis*, *platensis*. Die Abbildungen beziehen sich nicht bloß auf diese neuen, sondern auch auf schon bekannte Arten.

Matouschek (Wien).

Moesz, Gustav, A l i s z t h a r m a t. [Über den Mehltau.] 4^o. 15 pp. Budapest (Urania) 1912. [Magyarisch.]

In der Einleitung geschichtliche Daten über den Mehltau. Die Entwicklungsgeschichte der Erysipheen wird nach Harper angegeben. Im Bestimmungsschlüssel werden 10 Gattungen berücksichtigt; bei der Beschreibung der Arten nimmt Verf. Rücksicht auf das ungarische Gebiet, wobei er auch *Oidium quercinum* erwähnt. Die Bekämpfungsmaßregel gegen einige der recht parasitären Arten gibt er an. Sehr schön sind die Figuren, die zum Teil Originale sind. Hierbei bildet Verf. insbesondere die Anhängsel der Perithezien und die Konidienträger ab.

Matouschek (Wien).

Blackman, V. H. and Welsford, E. J., The Development of the Perithecium of *Polystigma rubrum* DC. (Ann. of Bot. Vol. 26. 1912. p. 795—799.)

Askogonien sind zwar wohl entwickelt, doch infolge einer Desorganisation erzeugen sie keine askogenen Hyphen. Die Spermarien sind funktionslos. Nukleare Fusionen findet man schon in den Asci. Vegetative Hyphen brechen öfters durch die Stomata hinaus, doch haben erstere nichts mit den Askogonien zu tun und können nicht als Trichogynen aufgefaßt werden. Ein normaler sexueller Prozeß findet bei dem Pilze also nicht statt.

Matouschek (Wien).

Moesz, G., A Marssonina Kirchneri Hegyi gombáról.
[Über Marssonina Kirchneri Hegyi n. sp.] (Botanikai közlemények. Bd. 11. p. 43.) [Magyar.]

An von Hegyi erhaltenen Pflanzen fand Verf. statt des genannten Pilzes nur *Fusicladium depressum* var. *Petroselini* und *Phoma Anethi*.
Matouschek (Wien).

Fraser, W. P., Further Cultures of heteroecious Rusts.
(Mycologia. Vol. 5. 1913. p. 233.)

Mit Teleutosporen von *Uredinopsis Struthiopteridis* auf *Onoclea struthiopteris* wurde *Abies balsamea* erfolgreich infiziert. Frische Aecidiosporen von *Peridermium balsameum* auf *Abies balsamea* wurden wiederholt auf *Onoclea struthiopteris*, *O. sensibilis*, *Phegopteris dryopteris* und *Osmunda claytoniana* gebracht; die Infektion ging nur auf der erstgenannten Pflanze an. — Teleutosporen von *Uredinopsis osmundae* auf *Osmunda claytoniana* infizierten *Abies balsamea*; etwa 3 Wochen nach der Infektion erschienen die Aecidien von *Peridermium balsameum*. — Aecidiosporen des *Peridermium balsameum* von *Abies balsamea*, die in der Nähe von stark rostbefallenem *Aspidium thelypteris* gesammelt waren, wurden auf dieses Farnkraut übertragen und infizierten dasselbe. — Teleutosporen der *Uredinopsis phegopteridis* von *Phegopteris* infizierten *Abies balsamea*. — Mit Teleutosporen der *Uredinopsis mirabilis* von *Onoclea sensibilis* konnte *Abies balsamea* infiziert werden; umgekehrt gelangen auch Infektionsversuche mit den Aecidiosporen des *Peridermium balsameum* auf *Onoclea sensibilis*. — Endlich gelangen Infektionsversuche mit Teleutosporen des *Pucciniastrum myrtilli* von *Vaccinium canadense* auf *Tsuga canadensis*, mit Teleutosporen der *Melampsora medusa* von *Populus grandidentata* auf *Tsuga canadensis* und mit Teleutosporen der *Melampsora arctica* von *Salix* auf *Abies balsamea*.
Riehm (Berlin-Dahlem).

Beauverie, J., État actuel de la question de la propagation des Rouilles. (Ann. de la Soc. botan. de Lyon. T. 36. 1912. p. 24—60.)

Wenn er auch alle Hochachtung vor den J. Eriksson'schen Arbeiten, die mit großer Konsequenz durchgeführt und noch weiter verfolgt werden, hat, so glaubt doch Verf., darauf hinweisen zu können, daß die Ansteckung durch äußere Keime hinreichend ist. Man denke nur an die Dauerhaftigkeit der Uredosporen. Die zytologischen Untersuchungen der Phänomene, welche zwischen Parasit und Wirt vorgehen, weisen nicht auf das Vorhandensein des Mykoplasmas hin. Die Fragen der Spezialisierung des Parasitismus, der Rezeptivität und der Immunität, der phagozytären und symbiontischen Theorie, der Schädlichkeit der Rostpilze, bieten vielfach Momente weiteren interessanten Studiums. Da heißt es, um der Landwirtschaft Nutzen zu bringen, Geldopfer anzuwenden, um über bedeutende Punkte in dieser Frage einig zu werden.
Matouschek (Wien).

Sydow, P., *Uredineae exsiccatae*. Fasc. 48. No. 2351—2400. Berlin 1911.

—, *Ustilagineae exsiccatae*. Fasc. 11. No. 426—450. Berlin 1911.

Die Sammlung enthält eine Reihe von kürzlich beschriebenen neuen Arten, wie z. B.

Uromyces orientalis Syd. auf *Indigofera linifolia*, *Puccinia deminuta* Vleugel auf *Galium palustre*, *Puccinia melanopsis* Syd. auf *Gynandris Sisyrrinchium*, *Puccinia Polygoni-alpini* Cruchet et Mayor auf *Polygonum alpinum*, *Cystopsora Olece* Butl. auf *Olea dioica*, *Uredo Scheffleri* Syd. auf einer *Capparidacee*, *Ustilago paradoxa* Syd. et Butl. auf *Panicum frumentaceum*.

W. Herter (Tegel).

Beauverie, J., L'hypothèse du mycoplasma et les corpuscules métachromatiques. (Compt. Rend. Acad. Scienc. Paris. T. 42. p. 612—615.)

Verf. glaubt, nachweisen zu können, daß deswegen die Mykoplasma-theorie irrig ist, weil die metachromatischen Körnchen, aufgefunden in den Zellen des Uredineenmycels und auch in den erkrankten Wirtszellen, mit den Zellkernen des Rostpilzes verwechselt wurden.

Matouschek (Wien).

Borggardt, A. J., Über die Kernverhältnisse bei *Uredo alpestris*. (Mykol. Centralbl. Bd. 2. 1913. p. 193—195.)

Bei *Uredo alpestris* wurde festgestellt, daß die Überwinterung durch die Uredosporen erfolgt und die Verbreitung im Sommer ebenfalls den Uredosporen zu danken ist. Es blieb allerdings immer noch die Vermutung offen, daß die Uredosporen nur besonders ausgebildete Teleutosporen seien, zumal bisher noch niemals die Auskeimung gesehen war. Deshalb untersuchte Verf. die Kerne. Jede Spore ergab zwei Kerne, ebenso wie die Zellen der Paraphysen. Demnach haben wir es hier wirklich mit Uredosporen zu tun.

G. Lindau (Berlin).

Grove, W. B., *Sphaerella* v. *Mycosphaerella*. (Journ. of Bot. Vol. 50. p. 89—92.)

Verf. behält mit Lindau den Johnsonschen Namen *Mycosphaerella* (1884) für das Friessche Pilzgenus *Sphaerella* (1849) bei, während er für die Saccardosche Gattung *Mycosphaerella* (1891), deren Arten 16-sporige Asci besitzen, den Namen *Diplosphaerella* vorschlägt. Der Name *Sphaerella* Sommerfeld (1824) bleibt für die Algengattung der *Volvocales* bestehen.

W. Herter (Porto Alegre).

Knoll, F., Über die Abscheidung von Flüssigkeit an und in den Fruchtkörpern verschiedener Hymenomyceten. (Ber. d. Deutsch. Bot. Gesellsch. Bd. 30. 1912. Generalversammlungsh. p. (36)—(44).)

Verschiedene Hymenomyceten besitzen besondere Organe zur Flüssigkeitsabsonderung, einzellige Haare, welche an ihrem Ende fast stets nur einen Flüssigkeitstropfen ausscheiden. An der Austrittsstelle der Flüssigkeit verschleimt die Zellwand. Die Ausscheidung wurde bei dem Pilze *Panecolus helvolus* näher studiert.

Bei jungen Agaricineenfruchtkörpern bilden sich nicht nur äußerlich, sondern auch in dem Markraum Flüssigkeitstropfen, die später bei der Streckung des Stieles wieder verbraucht werden.

Wird *Coprinus lagopus* im feuchten Raum kultiviert, dann treten am Fruchtsiel vor der Streckung einige wasserhelle Tropfen auf, die aber nicht am Ende von Haaren, sondern offenbar aus Spalten zwischen den Zellen des unentwickelten Fruchtsieles ausgeschieden werden. Sie enthalten Kaliumoxalat und entstehen dadurch, daß die überschüssige Flüssigkeit des Markraumes aus dem Stiel herausgepreßt wird.

K. Müller (Augustenberg).

Edgerton, C. W., The Melanconiales. (Transact. of the Amer. Microscop. Soc. Vol. 31. 1912. p. 243—265, w. fig.)

Eine übersichtliche Bearbeitung der Melanconiales, einer Ordnung der Fungi imperfecti. Der Acervulus ist für sie charakteristisch, es stehen die Konidien auf Konidienlagern. Die genannte Ordnung besteht zum Teil aus Stadien, die als Konidienformen von Ascomyceten anzusehen sind. Es ergibt sich nach dem jetzigen Stande folgendes:

Zum Ascomycet gehört der Fungus imperfectus: Gnomonia: Gloeosporium, Marssonina; Glomerella: Gloeosporium, Colletotrichum; Pseudopeziza: Gloeosporium; Neofabrea: Gloeosporium; Sphaerella: Gloeosporium; Diaporthe: Myxosporium; Trochila: Gloeosporium, Marssonina; Anthostomella: Myxosporium; Pseudovalsa: Coryneum.

Mit Gilsons „fixing solution“ erhielt Verf. sehr gute Präparate; die Kulturmethode sind angegeben (die gewöhnlichsten Nährmedien bewährten sich am besten). Die Genera der Melanconiales und gewisse Arten werden auf Grund der Gattungs- und Arten-Schlüssel genau beschrieben und zwar von Gloeosporium 11 Arten, Colletotrichum 9 Arten, Myxosporium 4, Melanconium 2, Marssonina 4, Pestalozzia 4, Coryneum 2, Cylindrosporium 2. — Es werden nur die Hauptvertreter also hervorgehoben, die in Amerika als Schädlinge auftreten.

Matouschek (Wien).

Sawada, K., Hypochnus on cultivated Plants in Formosa. (The Botan. Magaz. Vol. 26. p. 125—138.) [Japan.]

Verf. zählt einige Arten von Hypochnus, Corticium und Sclerotinium auf, die er auf diversen kultivierten Pflanzen auf Formosa fand. Die Synonymik ist interessant. Hypochnus centrifugus (Lév.) Tul. (zu den Autobasidiomyceten gehörig) kommt auf 93 Pflanzenarten (aus 38 Pflanzenfamilien) vor.

Matouschek (Wien).

Banker, H. J., Type Studies in the Hydnaceae. IV. The genus Phellodon. (Mycologia. Vol. 5. 1913. p. 62.)

Verf. behandelt in der vorliegenden Arbeit Phellodon amicus (Hydnum amicum), P. pullus (Hydnum pullum), P. tomentosus (Hydnum tomentosum) und Phellodon carnosus n. sp.

Rieh m (Berlin-Dahlem).

Murrill, W. A., The Amanitas of Eastern North America. (Mycologia. Vol. 5. 1913. p. 72.)

Verf. behandelt die Gattung *Venenarius* und *Vaginata*, zu denen er verschiedene *Agaricus*- und *Amanita*-Arten rechnet. *Venenarius muscarius* und *Vaginata agglutinata* sind auf gut reproduzierten Photographien dargestellt.

Riehm (Berlin-Dahlem).

Smotlacha, Franz, Monografie českých hub hřibovitých (Boletineí) [= Monographische Bearbeitung der Boletineen Böhmens]. (Sitzungsber. d. kgl. böhm. Gesellsch. d. Wissensch., math.-natur. Kl. Jg. 1911. [1912.] p. 1—73.) [In tschechischer Sprache.]

Uns interessieren aus der Arbeit hier nur folgende Daten:

1. Das Auftreten der Boletineen hängt recht stark von edaphytischen Verhältnissen ab. Mit jedem Boden nehmen nur vorlieb *Boletus chrysenteron* und *subtomentosus*. Manche *Boletus*-Arten wachsen nur in der Nähe gewisser Bäume, z. B.

Boletus rufus bei Espen, *B. scaber* und *versipellis* bei Birken, *B. rugosus* bei Weißbuchen, *B. Velenovskýi* bei Rotbuchen.

2. Dies führt den Verf. zu der Ansicht, daß viele Arten Mykorrhizen auf den Wurzeln bestimmter Baumarten ausbilden. Es handelt sich also nicht bloß um eine saprophytische Lebensweise, sondern auch um Symbiose. Verf. konnte dies scharf nachweisen. Nur bei *Boletus parasiticus* Bull. liegt echter Parasitismus vor, da er nur auf den Fruchtkörpern von *Scleroderma* Pers. lebt.

3. Die künstliche Kultur der Boletineen hängt außer von edaphytischen Verhältnissen auch von dem Vorhandensein der *Mycorrhiza* ab.

Matouschek (Wien).

Ferdinandsen, C. und Winge, O., Studier over en hidtil upaaagtet, almindelig dansk Bøgersvamp, *Sclerotinia scirpicola* Rehm. [Studien über einen bis jetzt unbeachteten gemeinen dänischen *Discomyceten*.] (Biolog. Arbejder tilegnet. Eug. Warming d. 3. Nov. 1911. p. 281—298. 7 Fig.)

Es ist den Verff. gelungen, viele neue Beiträge zur Beleuchtung des Lebenszyklus des erwähnten Pilzes zu liefern. Die Sklerotien (*Sclerotium roseum* Fries) werden im Frühling die Seeufer entlang aufgespült, nachdem das Eis geschmolzen ist. Sie fruktifizieren im Mai und bilden Ascomata von der gewöhnlichen *Sclerotinia*-Form (*Sclerotinia scirpicola* Rehm), bis 30 aus jeder Sklerotie; Sklerotien, die einmal früher fruktifiziert haben, können bisweilen neue Ascomata in folgenden Jahren entwickeln. Die ejakulierten Sporen infizieren die Stengel von *Scirpus lacuster* gerade unter der Infloreszenz. Das Mycelium wächst durch die Stengel hinab und bildet neue Sklerotien mitten in den Stengeln, aber gleichzeitig eine — bis jetzt ganz unbekannte — Konidienform, die unter dem Namen *Sphacelia scirpicola* beschrieben wird, und die ganz der bekannten *Sphacelia ambiens* (Desm.) Sacc. entspricht, die mit *Sclerotinia Duriaeaana* (Tul.) Quel. auf *Carex* zusammengehört.

J. Lind (Kopenhagen).

Ferdinandsen, C. u. Winge, Ö., Über *Myrioconium Scirpi* Syd. (Annal. mycol. Vol. 11. 1913. p. 21—24.)

Sydow hatte auf *Scirpus lacustris* einen Pilz gefunden, der unter dem neuen Gattungsnamen *Myrioconium* zu den Melanconieen gestellt wurde. Die Verff. weisen nun nach, daß die Art identisch ist mit einem fast gleichzeitig von ihnen bearbeiteten Pilz, der *Sclerotinia scirpicola* Rehm. Die Sydowsche Art gehört als Konidienform zu dieser *Sclerotinia*, die ihre Sklerotien im Innern der Stengel von *Scirpus lacustris* bildet. Wenn man die Konidienformen von solchen *Sclerotinia*-Arten mit dem Gattungsnamen *Myrioconium* bezeichnen will, so erscheint es besser, diese Formgattung in die Nähe von *Sphacelia* zu den Tubercularieen zu stellen.

Lindau (Berlin).

Arthur, J. C., Uredinales on *Carex* in North America. (Mycologia. Vol. 5. 1913. p. 240.)

Verf. teilt mit, daß die Bearbeitung der auf *Carex*-Arten in Amerika vorkommenden Roste in Angriff genommen worden ist. 24 *Dicaeoma*-Arten sind bis jetzt auf 106 *Carex*-Arten festgestellt; nähere Mitteilungen werden vorläufig noch nicht gemacht. Riehm (Berlin-Dahlem).

Witte, H., Om formrikedomen hov våra viktigare vallgräs. [Über die Formenmannigfaltigkeit der wichtigeren Futtergräser.] (Sveriges Utsädesf. Tidskrift. 1912. p. 65—118. 41 Fig., 30 Taf.) [Mit deutschem Resumé.]

Der Verf. untersuchte viele Eigenschaften der genannten Gräser; sie variieren mehr weniger und zwar nach allen Richtungen. Jede solche Kombination ist eine „Form“. Uns interessieren besonders folgende Daten:

1. Einige Formen von *Dactylis glomerata* zeigen eine recht verschiedene Winterfestigkeit;

2. Widerstandsfähig gegen Rost: Sie ist bei folgenden Arten eine verschiedene: *Dactylis glomerata* durch *Uromyces Dactylidis*, *Phleum pratense* durch *Puccinia Phleipratensis*, *Festuca pratensis* durch *Pucc. coronifera* f. sp. *Festucæ*, *Avena elatior* durch *Pucc. arrhenateri*, *Alopecurus pratensis* durch *Pucc. perplexans*, *Poa pratensis* durch *Pucc. poarum*.

Die Vererbung der Rostempfindlichkeit wird erläutert.

3. Das Welken der Blätter diverser Futtergrasarten scheint sehr zu variieren.

Matouschek (Wien).

Elofson, A., Redogörelse för verksamheten vid Sveriges Utsädesförenings Ultunafilial år 1910. [Bericht über die Tätigkeit der Ultuna-Filiale des schwedischen Saatzuchtvereines im Jahre 1910.] (Sveriges Utsädesfören. Tidskr. 1911. p. 324—344.)

Uns interessieren hier nur folgende Angaben:

1. Recht widerstandsfähig gegen Schwarzrost erwies sich der Fyrishafer.

2. Selbst in ungünstigen Jahren lieferte der Pudelweizen mehr Korn-ertrag als der Bore-Weizen.

Matouschek (Wien).

Rostrup, Sofie, Die Lebensweise der *Hylemyia coarctata* in Dänemark. (Zeitschr. f. Pflanzenkr. Bd. 21. 1911. p. 385—387.)

Hylemyia coarctata tritt in Dänemark nur in einer Generation auf. Sie legt ihre Eier in die Erde, nicht auf die Pflanzen. Das sicherste Mittel, um sich gegen den Schädling zu schützen, besteht darin, während der Zeit des Eierlegens das Feld nicht kahl zu lassen. Ein einjähriges Klee-

feld darf also erst nach dem 20. August gepflügt werden. Der Angriff der *Hylemyia* tritt besonders vernichtend auf Feldern auf, die durch Frost gelitten haben. Roggen leidet weniger als Weizen. In Gegenden, wo die Blumenfliege stark auftritt, soll der Roggen etwas dichter wie gewöhnlich gesät werden.

W. Hert er (Tegel).

Fulmek, Leop., Über *Anisoplia austriaca* F. (Wiener landw. Ztg. Jahrg. 62. p. 704.)

In Böhmen trat dieser Schädling des Getreides 1912 auf. Verf. glaubt nicht, daß die Larven auch im verrotteten Dünger leben (wie Bouché meint). Die Abwehr ist nur durch Aufgeben des einseitigen Halmfruchtbaues (Fruchtwechsel) und durch Wegfangen der Käfer mit eigens konstruierten Fangapparaten möglich. Einen solchen sah Verf. in der kgl. ungar. entomologischen Station in Budapest: Eine lange Dachrinne aus Blech, auf der einen Seite kammförmig mit langen Zinken zum Abkämmen der Getreidehalme, auf der anderen Seite aus Leinwandstreifen ein sackartiger Behälter, in den die abgekämmten Käfer sich sammeln. Der Apparat wird von 2 Mann oder Pferden durch die Felder hindurchgetragen. Tiefgründige Bodenbearbeitung vor der Saatbestellung, Überschußdüngung zum kräftigen Wachs-tume der Pflanzen und Schutz der insektenfressenden Vögel dürften im all-gemeinen vorbeugend wirken.

M a t o u s c h e k (Wien).

Reuter, E., Ett uppträdande af halm dödaren (*Ophiobolus*) i Finland. [= Über das Auftreten von *Ophiobolus* in Finland.] (Meddel. af Soc. pro Faun. et Flora Fenn. 38. 1912. p. 65—67.)

Die durch *Ophiobolus* verursachten Verheerungen auf Roggen in Finnland aus früheren Jahren wurden aufgezählt. Erst 1910 hat J. Eriks-son den Pilz determiniert. 1910 trat die gleiche Krankheit im Frühjahr auf den Roggenfeldern im Gouvernement Pskow in Rußland auf.

M a t o u s c h e k (Wien).

Hartwich, C., Schweizer Mutterkorn vom Jahre 1911. (Schweizer. Wochenschr. f. Chem. u. Pharm. Bd. 1. 1912. 3 pp.)

Die heiße Sommerzeit 1911 förderte in der Schweiz sehr die Entwicklung des Mutterkornes am Roggen. Es traten Sclerotien bis zu 7,7 cm Länge auf. Die Analyse zeigte folgendes: Fett nur 2,68 Proz., Alkaloïd gar nur 0,096 Proz. Dies ist recht auffallend. Verf. fand auch Leukosklerotien. Sie sind nur an der Spitze schwarzblau, sonst farblos, aber wie normale gebaut. Es fehlt ihnen Sklererythrin ganz; Alkaloïde sind vorhanden.

M a t o u s c h e k (Wien).

Vatter, A., *Secale cornutum* 1911 (Schweizer. Wochenschr. f. Chem. u. Pharm. 1912. p. 377).

1911 waren die Sklerotien von *Claviceps purpurea* auf dem Winterroggen im Kanton Bern kleiner, aber in bezug auf Gestalt und Farbe gleichmäßiger als die vom Sommerroggen. Die Alkaloidwerte waren 0,162, 0,195 und 0,220 Proz. Wegen des höheren Alkaloidwertes soll die Wirkung der Droge besser gewesen sein. Die Sklerotien brachten dem Getreide großen Schaden.

M a t o u s c h e k (Wien).

Dahlin, T., Über *Secale cornutum*. (Apotheker-Zeitg. 27. 1912. p. 1006—1007.)

1. Kurz vor der Reife des Roggens sammelte Verf. kleine *Claviceps*-Sklerotien in Mittelfinnland und bewahrte sie über Kalk vor Licht und Luft. Nach der Methode *Keller-Fromme* fand er 0,06 bis 0,13 Proz. Alkaloid, 22,29 bis 18,05 Proz. Fett, also einen abnehmenden Fettgehalt mit zunehmendem Kornutingehalt.

2. Die Säurezahl des Fettes (4,66—6,29) stieg mit zunehmendem Alter der aufbewahrten Sklerotien.

3. Die qualitative *Kellersche* kolorimetrische Kornutinprobe erwies sich als minder brauchbar. Matouschek (Wien).

Famineyn, A., Zur Erforschung der Wirkung von *Tilletia Tritici* und *Ustilago Maydis* auf den Menschen und die Haustiere. (Sitzungsber. d. phys.-math. Kl. d. kais. Akad. d. Wissensch. in St. Petersburg. 1908 u. 1912.) [Russisch.]

Eine 1907 ins Leben gerufene Kommission, an deren Spitze Verf. und *Borodin* standen, hatte zu prüfen, ob der sibirische, von *Tilletia Tritici* befallene und zur Aussaat nicht taugliche Weizen als Nahrung für die im genannten Jahre infolge einer großen Hungersnot heimgesuchten Landbevölkerung zu verabreichen sei. Die vielseitigen Untersuchungen der Kommissionsmitglieder ergaben, daß solcher Weizen unbedingt schädlich sei. *Liskun* wies zum ersten Male nach, daß die unbeweglichen, mit kleinen Warzen oder Stacheln versehenen Sporen die Darmwand passieren und in die Gewebe der infizierten Tiere (Mäuse und Kaninchen) eindringen können. Ja sie gelangten sogar in die Lymph- und Blutgefäße, wo sie mitunter so starke Verstopfungen hervorriefen, daß die Tiere eingingen. Das Literaturverzeichnis zeigt, daß dieser Vorgang nicht unbekannt geblieben ist. Und was beim Tiere möglich war, könnte ja auch beim Menschen stattfinden. Bemerkenswert ist es, daß das mit den Sporen infizierte Futter gern genommen wurde und daß die Tiere oft dabei recht gut aussahen und sogar zunahmen. Matouschek (Wien).

Zellner, Julius, Zur Chemie der höheren Pilze. V. Über den Maisbrand (*Ustilago Maydis* *Tulasne*). VI. Chemische Beziehungen zwischen höheren parasitischen Pilzen und ihrem Substrate. (Anzeiger der k. Akad. d. Wissensch. Wien, math.-naturw. Kl. 1910. No. X. p. 116—117.)

1. Die chemische Untersuchung des Maisbrandes ergab folgendes: Es sind vorhanden Trimethylamin und die als Sklerotinsäure bezeichnete gut kristallisierende Säure (beide von *Rademaker* und *Fischer* schon hier konstatiert), ferner Ergosterin-artige Körper, flüchtige und feste Fettsäuren, Ölsäure, Glycerin und Lezithin, zwei Harze, Phobaphen, Gerbstoff, Mannit, Erythrit, Glykose, gummiartiges Kohlehydrat, in Alkali lösliche kohlehydratartige Stoffe, chitinhaltige Zellsubstanz, Albuminate, Amanitol, ein invertierendes und fettspaltendes Ferment.

2. Verf. behandelt die Symbiose als chemisches Problem. Die Gründe, welche hierfür sprechen, sind:

a) Die wenigsten Stoffe gehen unverändert aus dem Wirt in den Parasiten über.

b) In erster Linie ist die chemische Zusammensetzung der parasitischen

Pilze durch ihre systematische Stellung bestimmt, dann erst durch das Substrat. Doch gibt es auch sporadisch auftretende Stoffe.

c) Prinzipielle chemische Unterschiede zwischen Saprophyten und Parasiten sind bisher nicht nachweisbar.

d) Namentlich auf fermentativem Wege erfolgt die Ausbeutung des Wirtes; doch sind auch andere Prozesse möglich und wahrscheinlich.

e) Es werden von den parasitischen Pilzen Exkremente abgeschieden, die bald indifferenten Natur sind, bald aber giftig wirken. Im letzteren Falle kommt es zu pathologischen Wachstumserscheinungen.

Die synthetischen Vorgänge in dem Parasiten sind bisher fast ganz unbekannt. Zur Aufklärung der chemischen Seite des Parasitismus ist eine Untersuchung von Arten vor allem nötig, die auf Tieren schmarotzen.

Matouschek (Wien).

Johnston, T. H., American Maize Smut. (Sec. Report of the Gov. Bur. of Microbiol. 1910/11. Sydney 1912. p. 181.)

Der Aufsatz enthält nichts Neues.

Riehm (Berlin-Dahlem).

Miyake, J., Studien über die Pilze der Reispflanze in Japan. (Journ. of the College of Agric. Imper. Univers. of Tokyo. Vol. 2. p. 237—276. Plat. XIII—XIV.)

Da der Reis das wichtigste landwirtschaftliche Produkt in Japan ist und reicher Ertrag oder Mißernte unmittelbar das ganze dortige Wirtschaftsleben beeinflusst, so verdienen die Untersuchungen des Verf. über die pilzlichen Schädiger des Reises eine besondere Beachtung, um so mehr, da man in Japan bisher erst wenig auf Erkrankungen der Reispflanze durch Pilze geachtet hat.

Verf. führt im ganzen 43 Pilze der Reispflanze auf, die sich ausschließlich auf die Ascomyceten und Fungi imperfecti verteilen. Einige derselben, nämlich besonders *Mycosphaerella Shiraiana* n. sp., *Phaeosphaeria Oryzae* n. sp., *Metasphaeria albescentis* v. Thuem., *Pyrenochaeta Oryzae* n. sp., *Hendersonia Oryzae* n. sp., *Dactylaria grisea* (Cke.) Shirai und *Ustilaginoides virens* (Cke.) Takahashi sind in Japan häufig und können mehr oder weniger großen Schaden an Reisfeldern verursachen, während andere ebenfalls häufige Spezies wie *Ophiobolus Oryzae* n. sp., *Coniothyrium brevisporum* n. sp., *Diplodia Oryzae* n. sp., *Phaeoseptoria Oryzae* n. sp. usw. weniger schädigend aufzutreten scheinen.

Zum Schluß gibt Verf. noch eine Zusammenstellung der außerhalb Japans auf der Reispflanze beobachteten Pilze.

H. Sydow (Schöneberg-Berlin).

Ludwig, Bericht über *Bruchus scutellaris*. (Abhandl. u. Berichte d. Ver. d. Naturfreunde zu Greiz. Bd. 6. p. 28.)

Durch Negerhirse wurde aus Ostafrika der genannte Käfer nach Europa eingeschleppt; er wurde bisher hier nie beobachtet. Als andere Schädlinge der Erbsen gibt Verf. auch an: Die Räumchen der *Grapholitha dorsana*, *nebritana* und *roseticolans* bohren das Innere aus, die Lärchen der *Cecidomyia pisi* kommen nur in den Schalen vor.

Matouschek (Wien).

Holloway, T. E., Insects liable to Dissemination in Shipments of Sugar Cane. (U. S. Dep. of Agric. Bur. of Entomol. Circul. 165. 1913.)

Die meisten Zuckerrohrschädlinge sind infolge Unachtsamkeit aus tropischen Gegenden nach den Vereinigten Staaten Nordamerikas eingeschleppt worden. Es handelt sich aber auch darum, die Ausbreitung lokalisierter Schädlinge innerhalb der Grenzen des Landes hintanzuhalten. — Die wichtigsten bohrenden Insekten werden beschrieben. Mit der Räucherung mit giftigen Gasen kommt man nicht aus. Untersuchungen über die Wirksamkeit von Tauchbadlösungen für das Zuckerrohr werden jetzt in größerem Maßstabe unternommen.

M a t o u s c h e k (Wien).

Vuillet, A., Les maladies du Ginseng [*Panax quinquefolium* L.]. (Journ. d'agricult. tropic. 1913. p. 78—79, 110—112.)

Traduction française d'un travail de Whetzel et Rosenbaum fait en Amérique. On y trouve la description de *Alternaria Panax* Whetzel et les méthodes de traitement appropriées. Une autre maladie est le Mildiou du Ginseng ou *Phytophthora cactorum* Con. et Leb. Schrot. La bouillie bordelaise est efficace contre ces parasites.

V. indique que les jeunes semis du Ginseng peuvent être atteints par *Rhizoctonia* sp., *Phytophthora cactorum*, *Pythium Debaryanum*; l'humidité favorise l'apparition des maladies dues à ces Champignons, il faut dessécher le sol. Un certain nombre de pieds de Ginseng se fanent, cet accident peut être dus à deux Cryptogames: *Acrostagmus* ou *Fusarium*; les pieds malades doivent être brûlés, peut être la bouillie bordelaise pourrait elle être utile. Des anguillules (*Heterodera radicola*) exercent de grands ravages. V. signale que la maladie la plus importante est la „rouille des racines“ du Ginseng. Les feuilles pâlisent et meurent, les racines sont pourries; l'agent pathogène paraît être une Perisporiée: *Thielavia basicola* Zopf. Comme remède: éviter la culture sur un sol contaminé, éviter les engrais alcalins, employer les engrais acides (superphosphates), désinfecter le sol par la vapeur ou le formol.

V. indique l'existence d'une „pourriture molle“ du ginseng, probablement d'origine bactérienne et d'une „pourriture blanche“. Cette dernière est due probablement au *Sclerotinia libertiana*; comme remède brûler les pieds atteints, assécher le sol. Il se produit aussi une „pourriture noire“ due à *Sclerotinia panacis* Raukin; même traitement que pour la pourriture blanche.

V. termine son article en conseillant de stériliser le sol au moyen du formol à 40 % dilué dans 100 parties d'eau et répandu sur le sol à raison de 35 litres par mètre carré. Il conseille aussi de stériliser le sol à la vapeur.

K u f f e r a t h (Bruxelles).

Dwight, Pierce W., Cushman, R. A. and Hood, C. E., The Insect Enemies of the Cotton Boll Weevil. (U. S. Dep. of Agric. Bull. Vol. 100. 1912. 99 pp. 3 tabl.)

49 einheimische Insektenarten bespricht Verf., welche die verschiedenen Stadien des Baumwollkapselkäfers angreifen. Er empfiehlt, diese Insekten im großen zu vermehren, was leicht möglich ist. Dazu aber erläutert er auch die Biologie jener Insekten, in denen die Parasiten des Baumwollschädling auch zur Entwicklung kommen. Ein Verzeichnis der Wirtspflanzen dieser Mitwirte wird entworfen. Auf die entsprechenden Kulturmaßnahmen (Boden, Pflanzungsart, Sortenwahl) muß natürlich auch Rücksicht genommen werden.

M a t o u s c h e k (Wien).

Osterwalder, A., Durch Bakterien verursachte Blüten- und Zweigdürre bei Obstbäumen. (Schweizer. Zeitschr. f. Obst- u. Weinb. 1912. p. 197—200.)

An Zwergobstbäumen trat diese auf. Ursache sind bewegliche Bakterien. Vielleicht ist die an die Monilia-Dürre sonst erinnernde Krankheit die gleiche, wie sie in Amerika hin und wieder auftritt und „pear blight“ (Birnbrand) genannt wird, der durch *Bacillus amylovorus* verursacht wird. Verf. sah die Krankheit in Wädenswil zum erstenmal.

Matouschek (Wien).

Johnston, T. H., On some Fungi found on Fruit. (Sec. Report of the Gov. Bur. of Microbiol. 1910/11. Sydney 1912. p. 182.)

An Obstbäumen wurden *Gloeosporium fructigenum* und *Monilia fructigena* gefunden; auch Schorfbildungen durch *Fusicladium dendriticum* und *Coniothecium chromatosporum* wurden beobachtet.

Riehm (Berlin-Dahlem).

Whetzel, H. H., Baldwin Spot or Stippin. (Sond. Abdr. a. Proc. N. Y. State Fruit Growers Assoc. Vol. 11. p. 28).

Die Stippfleckigkeit der Äpfel wird beschrieben, die Verbreitung der Krankheit angegeben und auf ihre ökonomische Bedeutung hingewiesen. Wenn auch die Ursache der Krankheit noch nicht mit Sicherheit festgestellt ist, so stimmen doch alle Autoren darin überein, daß große Hitze das Auftreten der Krankheit begünstigt; infolgedessen empfiehlt Verf. durch geeignete Drainage und Bodenbearbeitung für möglichst regelmäßige Wasserzufuhr zu sorgen.

Riehm (Berlin-Dahlem).

Ewert, R., Verschiedene Überwinterung der Monilien des Kern- und Steinobstes und ihre biologische Bedeutung. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. 22. p. 65—86.)

Verf. bewahrte Fruchtmumien der verschiedensten Herkunft in einem mit Drahtgaze umgebenen Häuschen auf; die Winterkälte konnte hier ungestört auf sie einwirken. Die Mumien stammten zumeist aus der Umgebung Proskaus.

Um die Lebensfähigkeit der *Monilia*-Sporen zu prüfen, wurden Keimproben im hängenden Tropfen sowie Infektionsversuche angestellt. Die letzteren fanden an abgeschnittenen Apfel-, Birnen-, Kirschen- und Pflaumenzweigen statt, die durch Einstellen in Wasser im warmen Zimmer zum Aufblühen gebracht worden waren. Nachdem die Sporen auf die Narben der Blüten gebracht worden waren, wurden Glaszylinder über dieselben gestülpt.

Die Versuche ergaben, daß die Sporen der gelben *Monilia fructigena* nicht überwinterungsfähig sind, während die der grauen *Monilia cinerea* den ganzen Winter keimfähig bleiben.

Da auch *Monilia fructigena* in frischem Zustande hohe Kältegrade verträgt, ohne daß ihre Sporen an der Keimfähigkeit Einbuße erleiden, so scheint das verschiedene Verhalten der beiden *Monilia*-Arten nicht auf ihrer größeren Kälteresistenz zu beruhen, sondern als eine Eigentümlichkeit der Pilzart aufgefaßt werden zu müssen, die allerdings auffällig ist, da die beiden Pilze sich sonst in ihrer Lebensweise so sehr gleichen.

W. Herter (Tegel).

Voges, E., Über *Monilia*-Sklerotien. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1913. p. 137—140.)

Sklerotien, die Verf. früher als zu *Monilia fructigena* gehörig vermutet und beschrieben hatte, erwiesen sich als nicht zugehörig. Sie trieben, in Petrischalen den Winter über aufbewahrt, 2—15 mm lange Stiele, die auf keinem Nährmedium (Agar + Pflaumendekokt, sterilisierte Pflaumen und Birnen) wohl aber in Wasser Mycel bildeten. Charakteristisch für das Mycel ist Schnallenbildung und zapfenförmige Aussackungen; die Zugehörigkeit war nicht festzustellen.

Sklerotien von *Monilia fructigena* entwickelten keine Apothecien, sondern nur Konidienlager (Mikrokonidien).

Impfungen mit frischen Fruchtkörpern von *Monilia fructigena* verliefen negativ an Apfel- und Birnblättern, positiv an Blättern der Schattenschmorellenkirsche (letztere wurde auch von *Monilia cinerea* angegriffen).

Rippel (Augustenberg).

Parrott, P. J., Oviposition among Tree Crickets. (Journ. of Econ. Entom. 1911. p. 216.)

Verf. schildert die Eiablage von *Oecanthus niveus* de Geer., *O. nigricornis* Wlk. und *O. quadripunctatus* Beut. Ersterer bevorzugt Apfelrinde, letztere zwei Himbeersträucher.

Matouschek (Wien).

Pierantoni, U., Larven-Hermaphroditismus von *Icerya purchasi*. (Zeitschr. f. wissenschaftl. Insektenbiol. 1911. p. 322/323.)

Icerya purchasi, die höchst schädliche Schildlaus, ist seit 10 Jahren in viele Fruchtbestände Süditaliens eingedrungen; die männliche Art ist sehr selten und bis Ende vergangenen Jahres in Italien nicht gefunden. Verf. hat verschiedene Exemplare von männlichen Larven aufgefunden und dies durch Schnitte festgestellt, da sich die Larven durch äußere Merkmale in beiden Geschlechtern sehr wenig unterscheiden. Auf diese Art konstatierte Verf. die Existenz der symbiotischen Organe in den männlichen Larven und kam zu dem Schluß, daß jene Organe sich in beiderlei Geschlechtern dieser Art vorfinden.

Verf. fand aber auch Larven, welche zu gleicher Zeit männliche und weibliche Geschlechtsorgane besaßen, ein Beispiel des wahren Hermaphroditismus. Die Larven sind nicht verschieden von den andern. Im Innern befinden sich zwei Hoden in der typischen gewölbten Form der Cocciden. In einigen Punkten ihrer kortikalen Teile erzeugen diese Organe jedoch Spermato gonien, gegen das Innere, in den Wölbungen und gegen das Äußere eine große Anzahl von Oogonien, welche sich in typischen Eiröhren entwickeln, versehen mit sämtlichen Elementen der monospermischen Eiröhren (Eizelle, Nährzellen, Follikelzellen), auf diese Art wahre hermaphroditische Organe konstituierend.

Verf. kann nicht bestimmt versichern, ob diese hermaphroditischen Larvenformen mit einer konstanten Phase der Geschlechtsentwicklung übereinstimmen, oder ob solche eine abnormale Kondition darstellen. Verf. hat sehr junge und vollständig männliche Larven und andere ziemlich entwickelte von 2½ mm beobachtet, welche den weiblichen Teil des hermaphroditischen Organes im Zustand bedeutender Rückbildung aufwiesen.

Sehr interessant ist die Tatsache, daß Insekten, außer den bekannten Fällen von Gynandromorphie und außer dem Fall der termitophilen Diptere, studiert von W a s m a n (Termitoxenia) bis heute noch keine Beispiele von Hermaphroditismus zeigten.

A. Kirchner (Halle).

Kuwana, S. J., The White-Flies of Japan. (Pomona College Journ. of Entomol. Vol. III. p. 620—627.)

Die erste ausführliche Studie über die *Aleyrodes*-Arten von Japan, welche deshalb in die obengenannte kalifornische Zeitschrift aufgenommen wurde, weil die Gefahr der Verschleppung dieser Insekten nach Kalifornien von Japan aus eine sehr naheliegende und große ist.

Verf. beschreibt genau folgende Arten, die in Japan auftreten:

Aleyrodes citri Rib. et How. (auf Orangenbäumen, nicht sehr gefährlich); *A. giffardi* Kotinsky (nur zu Shizuoka arg auf diesen Bäumen auftretend); *A. shizuokensis* n. sp. (auf *Oxalis corniculata* L.); *A. tokyonis* n. sp. (auf *Ilex integra* Th. nur auf einem Orte); *A. akebiae* n. sp. (auf *Akebia quinata* Den., ebenso); *A. marlatti* Quain. (auf Orangenbäumen); *A. taonabae* n. sp. (auf Weinstockblättern und auf *Taonaba japonica* Syz.); *A. aucubae* n. sp. (auf *Aucuba japonica* Th.); *A. euryaen* sp. (auf *Eurya ochracea* Sez.); *A. camelliae* n. sp. (auf *Thea japonica* L.); *A. spinosus* n. sp. (auf bisher unbekannter Nährpflanze).

Matouschek (Wien).

Hoffmann, Fritz, Zur Biologie der *Cheimatobia brumata*. (Entom. Zeitschr. Jg. 25. p. 261.)

Den Spanner fand Verf. bei 1300 m (Krieglacher Alpenübergang in die Oststeiermark) noch am 18. November fliegend; die spannenden Raupen leben auf der Heidelbeere (!). Bisher wurden als Nährpflanzen für die Raupen nur angegeben: Obstbäume, Laubholz, verschiedenes Gesträuch. Die am genannten Orte lebende Form des Falters ist etwas kleiner als die Normalform. Die Eier haben eine polygonale Zeichnung.

Matouschek (Wien).

Reiff, William, Etwas über „Canker-worms“. (Fauna exotica. Jahrg. 2. p. 37—38.)

In Massachusetts treten zwei „Canker-worms“ auf:

1. *Alsophila pometaria* Harr. („Fall Canker-worm“ der Amerikaner). Flugzeit Ende Oktober bis in den Jänner, im Süden Nordamerikas speziell sogar bis in das Frühjahr hinein. Die ♀ aber überwintern, erscheinen März—April noch auf der Rinde, um Eier zu legen, in Menge.

2. *Paleacrita vernata* Peck („Spring Canker-worm“). Schmetterling aus der Puppe im März-April kriechend, als erster Schmetterling, der im Frühlinge überhaupt erscheint. Männchen auch zu dieser Zeit auf der Rinde (in Menge). Das ♂ Geschlecht überwiegt das ♀. Es kommt vor, daß die überzähligen Männchen, welche kein ♀ ihrer Art finden können, mit Weibchen von *Alsophila ponetaria* Kopulation eingehen.

Beide Schädlinge erscheinen in Obstgärten überall und jedes Jahr in Menge.

Matouschek (Wien).

Horváth, G., Az amerikai bivalykabóca Magyarországon. [= Die amerikanische Büffelzikade in Ungarn]. (Rovartain lapok. XIX. p. 145—147.)

August 1912 sammelte man im Komitat Temes die bisher nur aus Nordamerika bekannte Art. Nach Ungarn kam dieser Obstkulturschädling wohl mit Pfropfzweigen. Es wäre bedauerlich, wenn der arge Schädiger sich gar in Ungarn ausbreiten würde.

Matouschek (Wien).

Lüstner, G., Über von einem Käfer hervorgerufene Schälwunden an Obstbaumtrieben. (Deutsch. Obstbauzeitung. 1912. p. 535—536.)

Alles Wissenswerte über den pechbraunen Lappenrüssler (*Otiorynchus singularis* L.), seine Lebensweise und Bekämpfung (Anlegen von Fanggürteln, Suchen bei Laternenlicht, Bespritzung mit arsensaurem Blei und Schweinfurtergrün). M a t o u s c h e k (Wien).

Illingworth, J. F., Cherry Fruit Flies and how to control them. (Cornell Univ. Agr. Experim. Stat. Ithaca. Bull. 315. 1912, 10 pl.)

Morphologie und Biologie der *Rhagoletis cingulata* Loew (Kirschenmadenfliege) und der *Rh. fausta* O. S. (erst neuerdings als Kirschenschädling bekannt) mit genauem Literaturverzeichnis. Als erfolgreiches Bekämpfungsmittel wird empfohlen: das Auftragen eines aus versüßtem Bleiarsenat bestehenden Giftködern auf die Bäume Anfang und Ende Juni. Vielleicht hält auch unversüßtes Bleiarsenat (4-proz.) in zweimaliger Anwendung zur Zeit des Auftretens des Insektes dieses von den Bäumen ab.

M a t o u s c h e k (Wien).

Kraus, X., Ein unheimlicher Gartenfeind. (Erfurter Führer. Bd. 13. 1913. p. 311—314.)

Psylla mali ruft auf Äpfeln oft starken Schaden hervor. Eine zweimalige Bespritzung mit 1-proz. wasserlöslichem Karbolineum vor dem Knospenausbruche nützte viel.

M a t o u s c h e k (Wien).

Hammar, A. G., Life-history Studies on the Codling Moth in Michigan. (U. S. Dep. of Agr. Bur. of Ent. Bull. 115. Part I. 1912. 86 pp. 3 tabl.)

Carpocapsa pomonella L. (Apfelwickler) zeigt im Gebiet nur eine Generation. Die ersten Motten erscheinen 5—10 Tage nach dem Blütenabfall, die ersten Larven der ersten Generation 10—11 Wochen nach dem Abfall der Blüten. Wenn dennoch Larven der zweiten Generation entwickelt werden, so kommen sie 10—11 Wochen nach diesem Abfalle. Die Motten leben 9—11 Tage; das Weibchen legt 80—90 Eier. Die Entwicklung einer Generation beansprucht etwa 50 Tage. Die Individuenzahl der beiden Generationen wechselt je nach den Jahren, doch nur einmal überwog die zweite Generation (um 7 Proz.). Eine fünfmalige Häutung der Räupchen wurde bemerkt; ein Teil der ersten Raupengeneration überwintert und von diesen gehen 25—35 Proz. ein. *Ascogaster carpocapsae* V. (Braconide) vernichtet 6—7 Proz. der Raupen. Daher empfiehlt Verf. folgende Zeit für die Spritzungen mit Bleiarsenat: Gleich nach dem Blütenabfall behufs Füllung der noch offenen Kelchgrube, ferner 3—4 Wochen später und endlich 10 Wochen nach der ersten Bespritzung.

M a t o u s c h e k (Wien).

Trägårdh, J., Undersökningar öfver roun bärs malen (*Argyresthia conjugella* Zett.) år 1910 och 1911. (Uppsats. i prakt. Entomol. 1913. p. 1—42.)

Gehen infolge des Mißratens der *Sorbus*-Beeren die Apfelmotten auf die Äpfelfrüchte über, so bedeutet dies eine Dezimierung der folgenden Generation. Die Sortenempfindlichkeit für den Schaden ist durch die Blütezeit und die schwächere Behaarung des Fruchtknotens zur Eiablagezeit bedingt. Stets werden ältere und Hochblattstämme stärker befallen als die anderen. Das Offenhalten des Bodens unter den befallenen Bäumen wirkt günstig gegen den Befall. 1870 kam der Schädling von Finnland über Åland nach Schweden, wo er seit 1898 häufiger auftritt.

M a t o u s c h e k (Wien).

Illingworth, J. F., A Study of the Biology of the Apple Maggot (*Rhagoletis pomonella*) together with an Investigation of Methods of Control. (Cornell Univ. Agric. Experim. Stat. Ithaka. Bull. 324. 1912, 13 pl.)

Biologie der genannten Apfelmadenfliege, die auf Äpfeln, Birnen und Heidelbeeren lebt und zwar besonders von Neu-Braunschweig, Quebec und Ontario südlich bis Pennsylvanien und vereinzelt in N.-Karolina lebt. In un gepflegten Obstgärten wurde mitunter die ganze Ernte vernichtet. Die Fliege lebt 30—50 Tage und legt bis 400 Eier. Als Gegenmittel waren bisher im Gebrauch: Auflesen der Fallfrüchte, Eintrieb von Hühnern, Untergraben der Bodenoberfläche im Herbst und Frühling, Lagerung der Früchte in Kühlräumen. Verf. empfiehlt auch das Aufspritzen eines aus versüßtem Bleiarsenat bestehenden Giftködners auf die bedrohten Bäume mittels einer Gartenbrause. Rascher wirkt wohl versüßtes Kaliumarsenat, es tötet die Fliegen, bringt aber schwache Beschädigungen des Laubes hervor. — Zum Schluß ein ausführliches Literaturverzeichnis. **Matouschek** (Wien).

Krausse, A. H., Beiträge zur Kenntnis der Insektenfauna Sardinien's. (Entomolog. Rundsch. Jg. 28. p. 173—174.)

Crematogaster scutellaris Ol. beschädigt Birnbäume, besonders aber Korkeichen. Die Ameisen durchlöchern nämlich den ganzen Kork. Das Nest ist im Baume. **Matouschek** (Wien).

Hofer, Blattkrankheiten an Birnbäumen und an Pfirsichen. (Schweiz. landw. Zeitschr. 1913. p. 526—527.)

1. 8-proz. Petroleumseifenbrühe oder Schwefelkalkbrühe vor dem Austreiben im Frühjahr und das Dufoursche Insektenpulverseifengemisch zur Laubbespritzung wird vom Verf. gegen die Pockenkrankheit der Birnblätter („la cloque des feuilles du poirier“) empfohlen.

2. Gegen die Blasenkrankheit der Birnblätter (durch *Taphrina bullata* erzeugt) und gegen die Pfirsich-Kräuselkrankheit (Erreger *Taphrina deformans*) werden empfohlen: Bordeauxbrühe, Zurückschneiden bzw. Verbrennen der kranken Triebe im Frühjahr.

Matouschek (Wien).

Grüß und Sorauer, Studien über den Gummifluß der Kirschen. (Notizbl. d. kgl. bot. Gart. u. Museums in Berlin-Dahlem. Bd. 47. 1910. p. 188—197.)

Sorauer fand gummosse Gewebspartien mitten in ganz gesundem und unverletztem Holze jugendlicher Achsen. Er schließt daraus, daß durch erhöhten Säuregehalt in einzelnen Gewebsgruppen ein Enzym zu gesteigerter Wirksamkeit gelangen kann, so daß es über die aufbauenden Enzyme im betreffenden Pflanzenteile siegt. Dieses Enzym muß also in der unverletzten Achse stets vorhanden sein.

Der andere Autor fand im frisch fließenden Kirschgummi eine Cytase, die die sekundären Membranen lösen kann. Das im Herbstholze eingelagerte Galaktan ist das Substrat dieser Cytase. Aus dem Galaktan wird im Frühjahr bei der Lösung der Reservestoffe Gummi, das bei ungenügender Ableitung Gummilücken im Gewebe zu bilden vermag.

Matouschek (Wien).

Brooks, F. T., „Silver-leaf“ disease. (Journ. Agric. Sc. Vol. 4. Part. 2. p. 133—144.)

In England wird der Erreger der Krankheit, *Stereum purpureum*, immer gefährlicher. Das Laub der Pflaumenbäume wird bei dieser Krankheit silberglänzend; dies ist ein sehr gutes Erkennungsmittel. Infektionsversuche gelangen sehr gut, da Infektion eintrat sowohl durch die Sporen als auch durch das Mycel, das in Reinkulturen gewonnen wurde.

Matouschek (Wien).

Stäger, Psychologische Beobachtungen an der Raupe des Pflaumenwicklers (*Carpocapsa funebrana* Fr.). (Ztschr. f. wissenschaftl. Insektenbiol. 1912. p. 102—105.)

Verf. gibt in seinen Beobachtungen an den Raupen des Pflaumenwicklers, die er durch Abtrennen des Kopfes mit den anhängenden 2 Ringen anstellte, bekannt, daß der Kopf seine Fähigkeit des Fressens noch $\frac{1}{2}$ Stunde nach Loslösung des Körpers ausübte. Er erbringt dadurch den Beweis, daß die Insektenpsyche nicht so dezentralisiert ist, wie gewöhnlich angenommen wird, die psychischen Funktionen sind in diesem Falle, durch ein Ganglienknötchen repräsentiert. Verf. nimmt an, daß der Raupenkopf tadellos sieht und riecht, daß jeder äußere Reiz auch innerlich wahrgenommen wird und daß man über der Materie ein geistiges Prinzip, welches man als Lebenskraft, Tierseele oder Instinkt bezeichnen kann, annehmen muß.

Verf. kommt zum Schluß, daß es wünschenswert sei, die nervösen Apparate, besonders das Gehirn der Insekten, vergleichend mikroskopisch anatomisch zu untersuchen und weitere, systematisch betriebene Amputationsversuche an Insekten vorzunehmen, um dieses Gebiet unserer Erkenntnis mehr und mehr zugänglich zu machen.

A. Kirchner (Halle a. S.).

Moore, W., Green peach Aphis (*Myzus persicae*) and its Control. (The Agricult. Journ. of the Union of South-Africa. IV. Pretoria 1912. p. 419—425.)

Die Pfirsichblattläuse verkräuseln in S.-Afrika im Frühlinge die Blätter, gehen dann, da geflügelt, auf die Nachbarbäume, zu Beginn der heißen Jahreszeit aber auf Rüben, Kohlrarten und Rettich usw., um später als geflügelte Herbstwanderer wieder auf den Pfirsichbaum zurückzukehren. Die Tiere (nicht die Eier) überwintern, und zwar zumeist auf dem Kohl. — Bekämpfung: Ölseife mit Tabakextraktzusatz. Die Parasiten der genannten Blattläuse sind: *Chilomenes lunatus*, *Aphidius* sp. und Schwebfliegenlarven.

Matouschek (Wien).

Naoumow, N., Sur une nouvelle espèce de *Pyrénomycète*: *Pleospora Catumensis* nov. sp. (Bull. Soc. mycol. France. T. 28. p. 55—56.)

Auf den Blattstielen des Orangenbaumes aus Südrußland (Batum) beobachtete Verf. einen parasitischen Pilz, der eine neue Art der Gattung *Pleospora* darstellt; er wird *P. batumensis* N. Naoumow genannt. Perithezien fast kugelig 100—120 μ im Durchmesser, Asci keulig, sparsam, 8-sporig, 50 \times 27 μ ; Sporen hyalin, elliptisch, mit 5 Querwänden, in der Mitte mit einer Längswand, schwach oder gar nicht eingeschnürt, 30 \times 12 μ groß.

Lakon (Tharandt).

Del Guercio, G., Mezzi chimici e meccanici per ostacolare la diffusione del fleotripide dell'olivo. (Redia. 7. p. 204—214.)

Männchen und Weibchen von *Phloeothrips oleae* benützen kaum ihre Flügel zum Besuch neuer Bäume und lassen sich vom Winde auch nicht losreißen, darum ist es nützlich, die Ölbäume in ausreichendem Abstände voneinander und kurz geschnitten zu halten. Zur Nymphosezeit verlassen die Larven und Nymphen die Triebspitzen, um sich den größeren Ästen und dem Stamme entlang nach dem Boden zu begeben. Anbringen eines Klebringes erweist sich dann sehr nützlich. Zu derselben Zeit kann man die unversteckten Blasenfüße mit Insektengiften, am besten mit 1—1,5 Proz. Nikotin erreichen. Pantanelli (Rom).

Formánek, R., Eine neue *Torneuma* aus Dalmatien. (Wiener Entomol. Ztg. Bd. 31. p. 232.)

Torneuma karamani n. sp. (Rüsselkäfer) wurde in geringer Zahl auf und in alten Wurzelästen alter Olivenbäume in Castella (Dalmatien) gefunden. Die Käferart ist nächstverwandt der *Torneuma Groupellei* Desbr. Matouschek (Wien).

Karny, H., Revision der Gattung *Heliothrips* Haliday. (Entomol. Rundschau. Jg. 28. p. 179—182.)

Das erwähnte Genus enthält arge Schädlinge.

Bestimmungstabellen, Synonymik, neue Gliederung der Vertreter dieser Gattung. Für *Physapus rubrocinctus* Giard schlägt Verf. als neues Subgenus den Namen *Selenothrips* vor. — Die neu aufgestellten Arten sind:

Selenothrips decolor (Neu-Guinea, wie die neotropische *S. rubrocinctus* auf Kakaoblättern lebend, stark schädlich;

Heliothrips aulmanni (mit voriger Art, weniger schädlich). Matouschek (Wien).

Fischer, Ed., Eine neue Pilzeinschleppung in der Schweiz. (Mitteil. d. naturf. Gesellsch. in Bern a. d. Jahre 1912. Bern 1913. p. XV.)

Nachdem die *Sphaerotheca mors-uvae* 1908 nach Müller-Thurgau im St. Gallischen Rheintale aufgetreten ist, erwähnt Faes 1909 den Pilz aus Chexbres, Jordi 1910 aus Wyningen (Kanton Bern).

Matouschek (Wien).

Bezssonoff, N., Notice sur le développement des conidio-phores et sur les phénomènes nucléaires qui l'accompagnent chez le „*Sphaerotheca Mors uvae*“ (Schwein. Berk. et Curt.) et le „*Microsphaera Astragali*“ (s. *Erysiphe Astr.*) DC. Trev. (Bull. Soc. Mycol. France. T. 29. 1913. p. 279—291, 6 pl.)

Eine ausführliche Darstellung der zytologischen Verhältnisse der sich entwickelnden Konidien von *Sphaerotheca mors uvae* (Schwein.) Berk. et Curt. und *Microsphaera Astragali* (DC.) Trev.

Lakon (Tharandt).

Nomura, X., Intorno alla ruggine del renegeso (*Astragalus sinicus* L.) e a due nuovi micromiceti patogeni del gelso. (Atti d. Instit. botan. dell'Univ. di Pavia. Ser. II. Vol. 9. p. 37—38.)

Coryneum Mori n. sp. und *Phoma nipponia* n. sp. rufen Verfärbungen und Erkrankungen an *Morus alba* in Schinano.

(Japan) hervor. — Die Blätter der oben genannten *Astragalus*-Art schädigt *Tuberculina Nomuriana* Sacc. n. sp. in litt. — Die Diagnosen dieser Arten sind lateinisch gehalten.

Matouschek (Wien).

Paczoski, J., Der wilde Wein aus Cherson (*Vitis silvestris* Gmel.). (Bull. f. angew. Botan. V. St. Petersburg 1912. p. 203—260.) [Russ. u. deutsch.]

Im genannten Gebiete tritt auf dem dort wirklich wild lebenden Weinstocke *Plasmopara viticola* Berl. und *Eriophyes vitis* D. auf. Stellenweise findet man auch *Cuscuta lupuliformis* Krock vor, die zum Unterschiede von *Cuscuta monogyna* Vahl erst in letzter Zeit in größeren Mengen in Südrußland aufgetreten ist. Im Dnjepr-Gebiete speziell kam 1911 diese *Cuscuta* stellenweise in so großer Menge vor, daß dieselbe vor dem Reifen der Früchte auf den erschöpften Trieben des Weinstocks, welche sie nährten, mit diesen eintrocknete. Die wilden Weinstöcke Chersons vertragen die größten dort herrschenden Kälten, die diversen verwilderten Sorten aber gehen ein. Matouschek (Wien).

Petri, L., Formazione e significato fisiologico dei cordoni endocellulari nelle viti affette da arricciamiento. (Rendic. Accad. Lincei. Ser. 5. Vol. 21. 1912. I. Sem. p. 505—511.)

Verf. konnte die Entstehung der sog. Stabbildungen oder intrazellulären Wandstränge, welche ein ausgezeichnet spezifisches histologisches Merkmal der Rebenverkräuslung darstellen, in den Kambiumzellen näher verfolgen. Diese Bildungen entstammen als geformtes Sekret pektischer Natur dem Cytoplasma, zunächst als kugelförmige Körperchen, welche dann zu den eigentümlichen Strängen verschmelzen; darauf werden sie unter dem Einflusse des Zellkernes von einer Zellstoffhülle eingekapselt und vom Plasma getrennt.

Die erste sichtbare Veränderung findet demnach bei dieser Krankheit im Kambium des Stockkopfes statt; die Entartung schreitet dann langsam fort, ohne zunächst die Kambiumtätigkeit oder die morphogenen Eigenschaften der apikalen Meristemgewebe zu beeinträchtigen; sie erhält sich lebenslang und ist durch Pfropfen übertragbar.

Infolge der Wundkernbildung entsteht diese Abänderung nicht und fehlt bei jüngeren Wurzeln vollständig. E. Pantanelli (Rom).

Jaccard, P. et Burnat, J., Sur un cas de Court-noué observé aux environs de Montpellier. (Rev. de viticult. T. 37. p. 665.)

In einem Weinberg in der Nähe von Montpellier blieben seit einigen Jahren einzelne Gruppen von Reben auffallend in ihrer Entwicklung zurück und drohten schließlich einzugehen. Die Krankheit griff immer weiter um sich. Nach der Untersuchung der Verff. handelte es sich dabei um eine Form der unter den Namen Court-noué und Roncet bekannten Krankheitserscheinungen, doch konnten im vorliegenden Falle keine Parasiten als Urheber nachgewiesen werden.

Die mikroskopische Untersuchung zeigte, daß die erkrankten und kurzbleibenden Triebe viel schwächer verholzt waren, als die gesunden. Zudem war an der Basis der kranken Blätter die Trennungsschicht, deren Bildung

dem Blattfall voranzugehen pflegt, schon 1—2 Monate früher angelegt, als an benachbarten gesunden Reben. In den kranken Blättern ließ sich ferner eine von den Blattnerven ausgehende, vorzeitige Zersetzung des Chlorophylls beobachten.

Verff. kommen zum Schlusse, daß es sich im vorliegenden Falle um eine physiologische (nicht parasitäre) Krankheit handle, die vielleicht auf eine Erschöpfung der betreffenden veredelten Reben infolge zu großer Fruchtbarkeit in früheren Jahren zurückzuführen sei. Dabei könne auch die besondere, in jener Gegend gebräuchliche Art der Düngung mit schuld sein, welche verursacht, daß die Rebenwurzeln nur sehr wenig in die Tiefe gehen, sondern sich nicht weit von der Erdoberfläche und auch nicht von der Basis des Stammes entfernen. Durch starken Rückschnitt sowie vermittels der Einwirkung von Schwefelkohlenstoff auf den betreffenden Weinbergsboden könnte der Krankheit nach den Verff. am wirksamsten entgegengetreten werden.

Schneider-Orelli (Wädenswil).

Lafforgue, G., *Le Botrytis cinerea*. (Rev. de viticult. T. 39. 1913. p. 245.)

Der Aufsatz gibt einen Überblick über den gegenwärtigen Stand unserer Kenntnisse von der Biologie und Bekämpfung des grauen Traubenschimmels (*Botrytis cinerea*), wobei das Hauptgewicht mehr auf die schädlichen Wirkungsformen als auf die Edelfäule gelegt wird. Verf. vertritt die Ansicht, daß der durch die Graufäule verursachte Schaden in Frankreich während der letzten Jahrzehnte bedeutend zugenommen habe, was er einerseits der intensiveren Düngung zuschreibt, welche die Widerstandsfähigkeit der Reben vermindere, und andererseits der Rebenveredelung (zum Schutz gegen die Reblaus), welche bewirke, daß die Traubenbeeren dichter beisammen stehen und früher reifen, wodurch die Beerenfäule ebenfalls begünstigt werde.

Eingehender behandelt der Verf. den Befall der Traubenkämme durch *Botrytis cinerea*; diese Form der Erkrankung trat in der ersten Septemberhälfte 1912 in der Gironde sehr stark auf, ohne daß man die Ursache immer sofort erkannte, weil das Mycel infolge geringer Luftfeuchtigkeit durch längere Zeit hindurch nicht zur Sporenbildung schritt.

Unter den zahlreichen Bekämpfungsmitteln gibt Verf. den pulverartigen den Vorzug, besonders deshalb, weil sie die damit bestäubten Rebenteile in vielen Fällen schon mechanisch vor den anfliegenden *Botrytis*-Konidien schützen. Verf. hält aber weitere Bekämpfungsversuche noch für dringend notwendig.

Schneider-Orelli (Wädenswil).

Prunet, A., *Le Black-Rot*. (Rev. de viticult. T. 39. 1913. p. 228.)

In Frankreich wird das Auftreten des Schwarzfäulepilzes, *Laestadia Bidwellii*, schon seit 27 Jahren beobachtet, trotzdem hat sich diese Krankheit erst über einen verhältnismäßig kleinen Teil der europäischen Weinbauggebiete verbreitet. Auch in Frankreich selbst ist die Ausbreitung eine sehr ungleichmäßige. Während z. B. in der Armagnac der Pilz stellenweise ganze Traubenernten zugrunde richtete, ist er in anderen Teilen des Landes, z. B. in der Provence nahezu unbekannt. Dies rührt nach dem Verf. davon her, daß es im zuerst genannten Gebiete während des Sommers meist sehr viel regnet, wodurch die *Laestadia*-Infektionen begünstigt werden, wogegen in der Provence die Sommerregen selten und von kurzer Dauer sind. Die Übertragung der Krankheit auf größere Entfernungen, also das

Entstehen neuer Infektionsherde erfolgt nach der Ansicht des Verf. ausschließlich vermittelt der *Asco* sporen; die in Pykniden gebildeten *Stylo* sporen würden dagegen nur in der nächsten Umgebung (durch das Regenwasser) verbreitet.

Deshalb wird empfohlen, die Bespritzungen gegen den Black-Rot auf das *Asco* sporenstadium, d. h. auf die Zeit vom Austreiben der Reben bis zur Blüte, zu beschränken. Immerhin sind auch in den Weingärten der Armagnac Schwarzfäuleepidemien viel seltener als Jahre mit heftigem Auftreten von *Plasmopara viticola*.

Schneider-Orelli (Wädenswil).

Keißler, K. von, Über die weiße Heidelbeere. (Mittel. d. Sekt. f. Naturk. d. österr. Touristenklub. XXIV. p. 73—74.)

Verf. fand die mit *Sclerotinia baccarum* (Schröt.) infizierten „weißen“ Heidelbeeren auch im Wiener Walde und in N.-Steiermark. Die pilzkranke Heidelbeere ist ganz eingetrocknet, hart, innen schwarz, ungenießbar. Die durch Ausbleiben des Farbstoffes entstandene weiße Heidelbeere ist weich, saftig, auch innen weiß und genießbar (*Vaccinium myrtillus* var. *leucocarpum* Hausm.).

Matouschek (Wien).

Boyd, D. A., Mycological Notes (The Glasgow Naturalist. Vol. 4. p. 85—88).

1. Die Verbreitung der Perisporiacee *Podosphaera myrtilлина* (Schub.) Kunze in Schottland wird genau angegeben. Im Gegensatz zu Trail fand Verf. den Pilz an den großen Sträuchern von *Vaccinium Myrtillus* nicht vor.

2. *Cronartium ribicolum* Deitr. fand Verf. zu Moffat auf Schwarzkiefern sehr stark entwickelt. In Amerika trat diese Form des *Cronartium* noch nicht auf. In England tritt nur noch *Cr. flaccidum* (A. et S.) Wint. auf; seine Uredo- und Teleutosporen fand man in einigen Gebieten auf der Paeonie, die Aecidien sah man noch nicht.

Matouschek (Wien).

Göttinger, Mitteilungen über Waldkulturen, über Insekten- und Elementarbeschädigungen der Wälder. Vortrag. (Verhandl. d. Forstwirte v. Mähren u. Schlesien. Jg. 36. 1912. p. 285—310.)

Die Nonne ist mit Frühjahr 1912 aus den Wäldern von Mähren und Schlesien verschwunden. Die mehrjährigen kostspieligen Bekämpfungen haben nur gezeigt, daß als vorbeugende Maßregeln die Erziehung gemischter Bestände und kräftige Durchforstung die wichtigsten sind. Die künstliche Infektion der Raupen mit dem Virus der Polyederkrankheit wird wohl das nächste Auftreten des Schädling nicht zu einer Kalamität gestalten lassen. — Infolge der Nonnenkalamität und der Dürre 1911 traten auf der Tanne in Menge auf: *Tomicus curvidens*, *Criphalus piceae*, *Pissodes piceae*, auf der Fichte aber *Tomicus chalcographus*, *micrographus*, *Polygraphus polygraphus*, *Pissodes hercyniae*, *Xyloterus lineatus*. *Hylesinus piniperda* erschien in Kiefernbeständen in Masse. Besonders in Ost-Schlesien befiel *Agaricus melleus* sehr stark Tannen, sogar bis 140-jährige Althölzer. Ein starkes Absterben dieser Baumart ist (nach Gustav Merker) darauf zurückzuführen, daß die Tanne nur die Hälfte derjenigen Wassermenge aus dem Boden aufnimmt, welche die Fichte demselben entzieht. In dünnen

Jahren fallen die Nadeln der Tanne schon jedes 4. oder 5. Jahr ab; die Assimilation wird stark beeinträchtigt. Da die Wurzeln dieses Baumes viel tiefer gehen als die der Fichte, kann erstere die leichteren Regen nicht ausnützen, sie gerät in einen Durst- und Hungerzustand und verliert dadurch die Widerstandskraft gegen äußere Gefahren, Insekten- und Pilzschäden. *Dendroctonus micans* stellt sich überall dort ein, wo der Hallimasch in größerer Menge vorkommt. An den Sünden des braunen Rüsselkäfers ist der oft übersehene *Hylostes cunicularius* beteiligt. *Botrychus amittinus* war das Berichtsjahr oft zu sehen. Die Bankskiefer hielt sich in allen Dürriahren im Gebiete sehr gut; in Böhmen speziell leidet sie seit 1904 stark durch *Tortrix buolina*, welche deren Nadeln verunstaltet. *Hylesinus* und Rüsselkäfer befallen diese Art genau so wie gemeine Kiefer; die Engerlinge schaden weniger, da das Wurzelsystem der *Banksiana* viel ausgebreiteter ist. — In der Diskussion hebt *Nikodem* die Gefährlichkeit des *Eichemehltaues* in Kroatien hervor: eine solche liege nur dann vor, wenn dem Auftreten ein Fraß durch Raupen oder Maikäfer vorangeht. Sollte im eingangs genannten Gebiete ein stärkerer Raupenfraß in Eichwäldern auftreten, so möge man auf der Hut sein. Derselbe macht noch auf eine bisher wenig bemerkte mechanische Verletzung von Nadelhölzern auf exponierten Bergrücken durch Eiskristalle aufmerksam. Die dem Winde zugekehrte Seite solcher Wälder erscheint oft plötzlich rotbraun gefärbt. Die Nadeln werden verletzt, wodurch auch die Transpiration im Wintersturm erhöht wird. Ähnliches bemerkte früher (bei Richenburg in Böhmen) *Nikodem* gelegentlich eines gewaltigen Sandsturmes und im Deliblater Sandgebiete (Ungarn) ist dies häufig zu bemerken. Es handelt sich da nur um mechanische Verletzungen. *Göttinger* und *von Koristka* machen noch auf die 1911 aufgetretenen Spätfröste aufmerksam: Sind die jungen Triebe abgefroren, so brachte dies einen namhaften Zuwachsverlust mit sich. Doch ging mitunter auch der ganze Buchenaufschlag zugrunde. Oft hat die folgende Dürre den schon geschädigten Wald ganz vernichtet. Unter dem Froste litten am meisten die Esche, Buche, Tanne, Fichte. Die folgende Dürre schädigte vor allem die Fichte, die Lärche, die japanische Lärche, die Weymouthskiefer, die gemeine Föhre und die Tanne; die Bankskiefer hielt sich aber gut. Von den Laubhölzern litten am stärksten Erlen, Eschen, Pappeln. Es werden viele statistische Daten mitgeteilt.

Matouschek (Wien).

Zederbauer, E., Versuche über individuelle Auslese bei Waldbäumen. I. *Pinus silvestris*. (Centralbl. f. d. ges. Forstwes. Jahrg. 38. p. 210—212. m. 1 farb. Taf.)

Uns interessieren hier nur die Angaben über die Schütte der Kiefer, hervorgerufen durch *Lophodermium Pini*.

1. Verf. untersuchte, ob die Nachkommen verschiedener Individuen desselben Bestandes oder derselben Gegend sich verschieden verhalten. Die Auswahl der Samenbäume geschah derart, daß Rücksicht genommen wurde auf breit- und schmalkronige Bäume (im Sinne *Kienitzs*). Die Nachkommen eines breitkronigen Samenbaumes, welche im Kiefernbestande (zu Mariabrunn in N.-Österreich) dominierten, wurden von der Schütte gar nicht befallen, sie sind immun, während die Nachkommen des im selben Bestande etwas unterdrückten, auch breitkronigen anderen Samenbaumes von der Krankheit sehr stark befallen wurden (Disposition). Von den Nachkommen

einiger Samenbäume wurden alle von der Schütte befallen mit Ausnahme einiger Individuen, die inmitten der erkrankten gelbbraunen ganz grün blieben. — Die farbige Tafel stellt den verschiedenen Grad der Erkrankung der Pflanzen durch die Schütte dar.

2. Beobachtungen im Staatsforste Niepolomice (bei Krakau) zeigten dem Verf. folgendes: April 1911 hatten nur die Weißföhren aus Norwegen und Finnland keine Schütte. Da auf den Kahlflächen des Revieres in der 2. Hälfte des September bereits Frühfröste auftreten, liegt die Vermutung nahe, daß die zu dieser Zeit bereits völlig ausgereiften Nadeln der nordischen Föhre durch diese Fröste nicht geschädigt werden, während die noch nicht ausgereiften Nadeln der mitteleuropäischen durch sie geschädigt und so für den Pilz disponiert werden. Dafür spricht auch die Erscheinung, daß junge, bis 10jährige Kulturen nur in den unteren Partien (bis 1 m) vom Schüttelpilz befallen werden. Vielleicht könnte die Vermeidung großer Kahlflächen dagegen helfen.

Matouschek (Wien).

Anderlind, Wahrnehmungen über die Waldverhältnisse in der Gegend von Abbazia in Istrien und über das Verhalten mehrerer Holzarten gegen den Salzgehalt der Luft an den Klippen des Quarneros. (Allgem. Forst- u. Jagdzeitg. Jg. 48. p. 236—239.)

1. Die Luft des Quarnero ist stark salzhaltig. Unmittelbar an der Küste und auf den Klippen leiden darunter die Nadelhölzer weniger als die Laubhölzer. Von diesen leidet die Ulme am wenigsten, mehr Mastix, noch mehr *Quercus cerris* und *Q. sessiliflora*, am meisten der Lorbeer. Bei der Villa Nazionale zu Neapel bemerkte Verf. stets das gänzliche Absterben der *Quercus Ilex* infolge gleicher Ursache.

Matouschek (Wien).

Bericht der Karstaufforstungskommission für die gefürstete Grafschaft Görz und Gradiska über ihre Tätigkeit für das Jahr 1911. (Österr. Vierteljahresschr. f. Forstwes., herausgeg. v. Österr. Reichsforstver. N. F. Bd. 31. 1913. p. 85 ff.)

Uns interessieren hier nur die Kulturschäden. 72,53 ha Kulturen wurden durch Waldbrände vernichtet. Die stärksten Schäden verursachten der Kiefertriebwickler, der Pinienprozessionsspinner, die Kiefernblattwespe, Engerlinge. Die 3 Monate dauernde außergewöhnliche Sommerdürre vernichtete 85 Proz. der neuen und 60 Proz. der älteren Aufforstungen, so daß die Aufforstungstätigkeit der nächsten Jahre sich fast ausschließlich auf Nachbesserungsarbeiten wird beschränken müssen.

Matouschek (Wien).

von Bersa, Über Karstaufforstungen in Krain und Küstenland. (Mitteil. d. krain.-küstenländ. Forstver. H. 29. Laibach 1912. p. 40—80.)

Nur die Schädigungen, welche die Aufforstungskulturen erlitten haben, interessieren uns hier:

I. Insektenschäden. Der Kiefertriebwickler (*Retinia buoliana* W. V.) befiel gerade die lückigen Kulturen der schlechteren Standorte oft so stark, daß viele Pflanzen ganz verkrüppelt waren. Zum Glück waren es nur die jüngeren (bis 12-jährigen) Kulturen. Das gleiche gilt bezüglich der Kiefernblattwespe. Mit dem Heranwachsen

der Kulturen werden wohl in beiden Fällen die Schäden zurücktreten. — Gegen den *Pissodes notatus* Fabr. (weißpunktierter Kiefernrüßelkäfer) nützte nur das Aushauen der kränkelnden Stangen. — Gegen den Nadelholzzünsler *Dioryctia silvestrella* half nur das Ausbrechen der großen Harzpollen; er verursacht schon seit 1901 zahlreiche Gipfelbrüche. Er befiel namentlich *Parolini*-Föhren. — In ganz jungen Kulturen verursachten *Engerlinge* einen sehr starken Schaden.; Abwehrmaßregeln konnten nicht ergriffen werden. — Gegen den *Pinienprozessionsspinner* (*Cnethocampa pithyocampa* V.) mußte sehr energisch vorgegangen werden. Er bevorzugt gerade die erwachsenen Kulturen, um seine Gespinste an dem Gipfeltrieb oder den höchsten Ästen herzustellen. 1909 trat sogar in einer Gegend ein völliger Kahlfraß ein; doch brach eine Krankheit (eine Art Flacherie) aus. Das Einsammeln der hochgelegenen Nester geschah mit Hilfe der Raupenscheeren. Die Raupen in den Nestern selbst zu töten gelang nicht: Es erheischte sehr viel Petroleum, um mit dem „Injekteur Pillot“ die Nester ganz zu durchtränken; die Kosten sind zu groß. Bei Anwendung von Formalin, Schwefelkohlenstoff, Benzin zeigte es sich aber, daß nur die direkt getroffenen Raupen sterben, die übrigen aber nur betäubt wurden, um sich dann wieder zu erholen. Dieser Schädling ist der schlimmste im Gebiete. Der Spinner ist nicht monophag; er frißt gern die *Deodora-zeder*.

II. Pilzschäden: *Rhizoetonia Strobi* Sch. trat 1899 an den Wurzeln der Weymouthskiefer zuerst auf; es kam zum Aushiebe der vielen erkrankten Stämme durch mehrere Jahre. — Viel gefährlicher erwies sich *Peridermium piniforma corticola* für die gleiche Art und für die *Parolinikiefer*. Fortgesetzter Aushieb brachte keine Abhilfe, ja der Pilz ging auf die Schwarzföhre über. Es bildeten sich vor einigen Jahren zwei ziemlich scharf umgrenzte Infektionsherde. Infolge des Zusammenwirkens des fast regenlosen Winters 1909/10 und der drei vorangegangenen starken Sommerdürren verbreitete sich plötzlich die Krankheit; der Schaden war enorm. Hernach trat die erstere mehr zurück.

III. Andere Schäden: Trockenmauern mußten gegen das Weidevieh errichtet werden; sie haben sich auch als sehr wirksames Mittel gegen Feuersgefahr erwiesen und zwar gegen Funkenschlag aus Lokomotiven und gegen Graslauffeuer. Nach ganz bestimmtem Plane wurden längs der Bahn und innerhalb der Kulturen baumlose Streifen belassen und Feuerschneisen errichtet.

Das rechtzeitige Aussicheln des Grases und die Durchläuterung und Aufästung der älteren Kulturen sind auch gute Mittel gegen das Weitergreifen des Feuers. Dennoch sind bei 103 Einzelbränden innerhalb der letzten 10 Jahre 153 ha Kulturen, darunter bis 20-jährige zugrunde gegangen. Die Brände entstanden auch durch Artillerieschießfeuer bei Manövern, durch Blitzschlag usw. Bei den Manövern wurden leider die Trockenmauern sowie die Steine, welche zum Schutze jedes einzelnen Bäumchens dienen, mitunter auseinandergeworfen. Dasselbe taten Buben, um Skorpione (Export nach Tirol behufs Erzeugung des Skorpionöls als Mittel gegen Skorpionsstich) zu fangen.

M a t o u s c h e k (Wien).

Wormsbacher, Henry, Die Katokalen der Vereinigten Staaten von Nordamerika. (Zeitschr. f. wissensch. Insektenbiol. VIII. p. 257—258).

Verf. entwirft eine Liste sämtlicher Arten, deren Lokalitäten und Futterpflanzen, soweit bekannt, mit Benutzung der Listen von Dyar und Beutemüller. Notiert sind 93 Arten. Die Futterpflanzen sind zumeist Walnuß- und Hickory-Nuß, Eichen, Weiden und Pappeln, *Myrica cerifera*, Akazien, wilde Obstbäume (und wohl auch kultivierte), *Cephalantus*. Von mancher Art konnte bisher die Nährpflanze der Raupe nicht eruiert werden. Matouschek (Wien).

Bondarzew, A. S., Verzeichnis der von A. A. Elenkin und B. P. Sawitsch auf Waldbäumen an der Küste des Schwarzen Meeres im Sommer 1912 gesammelten Pilze. (Journ. f. Pflanzenkrankh. Jg. 6. 1912. p. 112.) [Russisch.]

Die Arbeit enthält Abbildungen von *Trametes hispida*, *Lenzites tricolor*, *L. reichardtii*. Riehm (Berlin-Dahlem).

Strohmeyer, H., Neue Platypodiden aus Ost- und Westafrika, Madagaskar und Peru. (Entomolog. Blätt. 1911. p. 222—234.)

Verf. bringt Beschreibungen von neuen Arten dieser Forstschädlinge, die er teils selbst erworben, teils in den Sammlungen des deutschen Entomologischen Nationalmuseums und der Naturhistorischen Museen in Brüssel und Stockholm gefunden hat.

1. *Crossotarsus bidentatus* nov. sp. Fundort: Deutsch-Ostafrika, gehört in eine vorläufig noch nicht benannte neue Sektion der Gattung. 2. *Cr. alternans* nov. spec. Fundort: Kamerun, Gruppe *Crossotarsi alternantes* Chap. 3. *Cr. abbreviatus* nov. spec. Fundort: Kamerun, Gruppe *Crossotarsi alternantes* Chap. 3. *Cr. spinidens* nov. spec. Fundort: Gankuru-Fluß, Gruppe *Crossotarsi abdominales* Chap. 5. *Cr. serratus* nov. spec. Fundort: Kamerun und Kilimandjaro (Ljöstedt), Gruppe *Crossotarsi abdominal* Chap. 6. *Cr. Conradti* nov. spec. Fundort: Kamerun, Gruppe *Crossotarsi abdominal* Chap. 7. *Cr. brevis* nov. spec. Fundort: Kamerun, Gruppe vorläufig wie vorige. 8. *Platypus vastus* nov. spec. Fundort: Kamerun, Gruppe *Platypi sulcati* Chap. 9. *Pl. punctatus* nov. spec. Fundort: Madagaskar, Diego-Suarez. 10. *Pl. ater* nov. spec. Fundort: Madagaskar (Antongil Bai), Gruppe *Platypi sulcati* Chap. 11. *Pl. tomentosus* Strohm. Fundort Kamerun, paßt in keine der von Chapuis gebildeten Gruppen. 12. *Symmerus tuberculatus* Chapuis femina nova. Fundort: Kamerun, Togo, Franz.-Kongo. 13. *Mitosoma Chapuisi* nov. spec. Fundort: Madagaskar. 14. *Platypus bilobatus* nov. spec. Fundort: Peru, gehört in die Sektion der *Platypi bilobati* Blandf.

Kirchner (Halle).

Lüderwaldt, H., Zur Biologie von *Stenoma dissimilis* Kearfott. Fam. Tineidae (Kearfott det 1911). (Zeitschr. f. wiss. Insektenbiol. 1912. p. 5/6.)

Raupe 12 mm lang, nackt, bis auf einzelne, feine, lange, weiße Haare an den Leibesringen. Ausgewachsene mehr oder minder grün, unten und an den Seiten heller, mit dunkelgrünem, verwaschenem Längsstreifen über dem Rücken. Kopf und erstes Segment braun. Zur Verpuppung reife Exemplare haben eine mehr gelbliche Farbe. Von Januar—März leben die Räupchen an *Cedrales fissilis* Vell (= *brasiliensis* Juss), *Cedro blanco*, wo sie Verf. an jungen, im Museumspark gepflanzten, einige Jahre alten Bäumchen traf.

Sie wohnen versteckt, indem sie 2 Fiederblätter zusammenspinnen, einzeln oder bis zu 6 Stück. Sie nähren sich zunächst von der Epidermis der Blätter. Innerhalb der Behausung, wenn hier alles abgefressen, gehen sie

nach draußen. Den Kot setzen sie in einem langen Streifen zwischen den beiden Fiedern ab; durch Gespinnstfäden locker zusammengehalten, ruhen die Räupchen darunter aus. Die Tierchen sind lebhaft, beunruhigt laufen sie davon, lassen sich fallen an einem Faden, an dem sie sich wieder emporziehen. An der Erde springen sie lebhaft umher und suchen die Futterpflanze schnell wieder zu erreichen.

Zur Verpuppung spinnen sich die Raupen mit der Afterspitze zwischen den Fiederblättern fest; im Zwinger verpuppten sich mehrere in einem Nest, was im Freien kaum vorkommen dürfte. Die Falter schlüpfen nach 11 bis 12 Tagen aus.

A. Kirchner (Halle a. S.).

Hausrath, H., Versuche zur Entstehung der Vertrocknungsschütte. (Forstwissensch. Centralbl. Jg. 35. 1913. p. 352—354.)

E b e r m a y e r (1873) stellte eine Vertrocknungstheorie auf, welche dahin geht, daß die Nadeln vertrocknen infolge der übermäßigen Verdunstung, die eintreten müsse, wenn bei gefrorenem Boden die Nadeln den Sonnenstrahlen ausgesetzt sind. Wird das Mißverhältnis zwischen Wasserabgabe und -zufuhr zu groß, so sterben die Nadeln ab. M a y r ficht diese Theorie an, er führt das Braunwerden der Nadeln auf ein Erfrieren des Chlorophylls zurück und meint, es gebe weder eine Frost- noch Überverdunstungsschütte. Verf. prüfte nun die E b e r m a y e r s c h e Theorie. Er pflanzte einjährige Kiefern und dreijährige Fichten im Spätherbste in Töpfe, die nach Bedarf begossen wurden. Im Spätherbste kamen sie vor ein Nordfenster, damit die Chlorophyllkörner sicher aus der Schutzstellung heraustreten und sich so lagern sollten, daß eine möglichst intensive Lichtwirkung zu erwarten stand. Beim Eintritt des ersten scharfen Frostes kam je eine Kiefer und eine Fichte in eine Gefrierkiste, so daß kleingeschlagenes Eis bis zum Wurzelhalse reichte. 40 Stunden lang waren die Bäumchen dem Froste ausgesetzt; später kamen sie tagsüber ins Arbeitszimmer, abends wieder ins Freie (wo bis 5° C Kälte war). Zwei Kiefernpflanzen kamen, ähnlich behandelt, über Tag an ein Südfenster, also an die Sonne. Über die eine Pflanze stülpte Verf. behufs Abhaltung der chemisch wirksamen Strahlen einen rotbraunen Glaszylinder. Auch diese Pflanzen kamen jeden Abend vor das Nordfenster. Das Thermometer zeigte 0,1° C bezüglich der Bodentemperatur. Die Wasseraufnahme aus dem Boden war für diese Pflanzen unmöglich gemacht. Nur die so behandelten Kiefern zeigten typische Schüttegefärbung, die Nadeln starben ab, die Gipfelknospe wohl auch; die Kiefern, welche am Südfenster standen, zeigen auch beginnende Vertrocknung der Nadeln, die von der Spitze bei der vollbelichteten 1 cm, bei der durch den Zylinder geschützten 1,5 cm herabreichte. Es ist also M a y r s Theorie, wonach die Rötung durch zu intensive Belichtung in der Kältestarre hervorgebracht wird, nicht haltbar. Es existiert also eine Vertrocknungsschütte (unabhängig von der durch *Hysterium pinastri* Schrad. erzeugten Pilzschütte). Gegen diese anzukämpfen ist möglich, man braucht nur die Saatbeete durch Reisig zu schützen. Kiefernreisig zu wählen geht nicht an, weil dann die Pilzschütte eingeschleppt werden kann. — Das Vergilben der Nadeln speziell bei der Fichte, das man in strengen Wintern oft beobachten kann, und das wohl oft nur eine Vorstufe des Braunwerdens und Absterbens ist, beruht in vielen Fällen mit auf Überlichtung. Werden doch von der Schneedecke große Lichtmengen zurückgeworfen.

M a t o u s c h e k (Wien).

Lagerberg, T., En interessant bilningsafvikelse hos gran. [= Über eine Bildungsabweichung interessanter Art der Fichte.] (Svensk bot. Tidskr. VI. p. 884—888, m. Fig.)

An *Picea excelsa* von Uppland und Mittelschweden zeigte sich Zapfensucht und eine eigentümliche Form von Polycladie, die mit einer von Th. M. Fries 1890 beschriebenen eine gewisse Ähnlichkeit hat. Der Fichtenbaum, den Verf. gründlich studierte, zeigte die Polycladie zuerst (1910) als Überproduktion von Zweigen, im folgenden Jahre als Zapfensucht; 1912 war der Endsproß schwach, aber bezüglich der Knospen normal ausgebildet.

Matouschek (Wien).

Heck, Verhalten erwachsener Fichten gegen Dürre und Frost. (Forstwissensch. Centralbl. Bd. 34. p. 600—607, 664.)

1. Der mit andauernder Hitze verbundene Niederschlagsausfall des August 1911 verschuldete den Tod vieler Fichten im Revier Möckmühl (N.-W.-Grenze von Württemberg). Nach dem übereinstimmenden Zeugnisse Hunderter von Bohrspänen aus allen Teilen Deutschlands kommt trotzdem die Wassernot im Walde und durch sie das Hinsterben von Tausenden von Bäumen (zumeist von Fichten) im 1911er Jahrring nicht zum Ausdrucke. Ursache hiervon ist der Eintritt der Dürre erst im Hochsommer, die selbst an stärkerem Holze die feinen Wurzeln und das Kambium durch Austrocknen derselben tötete, nachdem der Zuwachs dieses Jahres in der Hauptsache schon geleistet war.

2. Die Empfindlichkeit der japanischen Lärche gegen Dürre scheint je nach Bodenart sehr verschieden zu sein. Ein frischer Angulatensandsteinboden bei Adelsberg, auf dem 1911 viele Fichten dürr wurden, bewährte sich als treffliche Unterlage für diese Lärchenart, wie auch für eine Mischung von grüner Douglastanne und Lawonszypresse.

3. Über Frostrisse bei Nadelhölzern: Bei 20-jährigen Fichten, eingesprengt in einer Buchendickung, sah Verf. 5—13 mm breite, 1—3 mm hohe, mehr oder weniger schiefe, leicht spiralige Risse, meist bis auf den Kern gehend. Mitunter besaß ein Baum 2—3 solche Risse bis auf den Boden herunter. Auf der Nordseite traten die Risse am häufigsten auf. Verf. hat auch überwallte (also ältere) Risse gesehen und zwar auch bei der Weymouthskiefer. Die frischen klafften noch nach einem Jahre. Der gegebene Versuch einer Erklärung der so auffallenden Frostrisse, wie sie anfangs 1912 bemerkt wurden, ist folgender: Dem so heißen trockenen Juli—August 1911 folgte ein in der zweiten Hälfte regnerischer September und ein auffallend nasser Spätherbst und Winteranfang. Der ausgetrocknete Boden war längst gesättigt, die Bäume ganz mit Wasser durchtränkt. Mitte Januar wehte ein mehrtägiger eisiger NO-Wind; das Wasser gefror im Holze, Risse entstanden. Am 3. Februar ein plötzlicher kurzer Frost von 23° C. Ähnliches dürfte hier im Winter 1879/80 geschehen sein (daher die überwallten Frostrisse). An exponierten Lagen auf der Albhochfläche (bei Geislingen, 630 m) bemerkte Schultz ähnliche, bisher noch nirgends beschriebene und erwähnte Frostrisse.

Matouschek (Wien).

Anonym. Hitzerrisse. (Forstwiss. Centralbl. Jahrg. 34. p. 662—663.)

Aus der Schweiz und Belgien meldet man an 15—30-jährigen Fichten von bestem Wuchse bis 1,5 cm lange Risse, die 2—3 cm klafften, sich später

auf 1 cm schlossen, wobei die Benadelung ganz gesund blieb. Ähnliche Beobachtungen liegen sonst nicht vor. **Matouschek** (Wien).

Laubert, R., *Tuberculina maxima* Rostr. (Deutsch. landw. Presse. 1911. p. 984.)

Gelegentlich seiner Untersuchungen über den Kiefernblasenrost hat der Verf. mit diesem zusammen *Tuberculina maxima* Rostr. gefunden. Diese kommt als Begleiter des *Peridermium* vor und wirkt der Entwicklung der Sporen des *Peridermium* entgegen. Man kann deshalb als Regel aufstellen: „kommt die *Tuberculina* auf dem *Peridermium* vor, sei es an Zweigen oder Hauptstämmen, so ist der Rostpilz unfähig, Sporen zu bilden.“ Verf. verweist darauf, daß es nicht uninteressant ist, daß auch die Schmarotzer und Schädlinge der Pflanzenwelt wiederum ihre ganz bestimmten Feinde unter den Mikroorganismen haben.

Wedemann (Gr.-Lichterfelde).

Lång, Gösta, *Polyporus annosus* Fr. i Finland. (Meddel. af Societ. pro Fauna et Flora Fennica. 1910. p. 16—17.)

In *Lapponia Memensis* fand man die Art im Sommer 1908 nur an 2 Fichten. Die Fruchtkörper fand man 1902 nur an den Wurzeln einer umgefallenen Fichte. Da die Art in Südfinnland häufiger ist, so scheint auch nach Untersuchungen der Verff. die Stammfäulnis der Fichte in den meisten Fällen von dieser Art oder von der ebenfalls häufigen *Armillaria mellea* hervorgebracht zu sein. **Matouschek** (Wien).

Eggers, H., Die Verbreitung von *Pityogenes austriacus* Wachtl und *elongatus* Löv. (Entomolog. Blätter. 1912. Beilage z. H. 6/7. 4 pp. Mit 1 Karte.)

Den Grund für die sporadische Verbreitung dieser beiden nahe verwandten Käfer kann man nicht angeben. Kommen doch beide Käfer auf weitverbreiteten Kiefern-Arten vor. *Pityogenes austriacus* ist verbreitet in Frankreich (auch auf *Pinus sylvestris*), Schweiz (auf gleicher Kiefernart), Österreich (auf dieser und auch auf der Schwarzkiefer), in Deutschland (nur Hannover, Württemberg), Schottland.

Pityogenes elongatus Löv. wurde bisher nur auf der Insel Seeland (im äußersten Nordwesten) gefunden. Die dortigen Nadelwälder sind nicht älter als 100 Jahre; der Käfer müßte von irgendwo eingewandert sein, doch fand ich ihn nicht vor im benachbarten Schweden und Deutschland.

Matouschek (Wien).

Schotte, Gunnar, Sveriges virkesrikaste skogsbestånd. [= Dernutzholzreichste Waldbestand Schwedens.] (Meddel. fr. Statens Skogs-Försöksanst. Stockholm 1912. p. 195—210, m. 3 Taf.) [Schwedisch.]

Auf Kulturflächen, hergestellt behufs Erzielung von Beispielen für die Produktion in verschiedenen schwedischen Waldtypen, fand sich in Menge *Polyporus Pini* ein; daher ist das Holz durch Fäule geschädigt.

Matouschek (Wien).

Braid, J. B., The sweet chestnut as a timber tree. (Quarterl. Journ. of Forestry f. the Roy. English Arboricult. Soc. 1911.)

Verf. macht darauf aufmerksam, daß die Edelkastanie gut gedeiht (in England) mit der Lärche gepflanzt. In Frostlagen hat sich der Voran- und Zwischenbau der Birke in 4 m Abstand bewährt. Leider trat 1911 in Jung-

wüchsen der Lärche *Argyresthia laevigatella* sehr verheerend auf; alle Seiten- und Gipfeltriebe in 5—7 Jahre alten Kulturen waren zerstört, in 30-jährigen Beständen nur die unteren Seitentriebe. Wird die Edelkastanie über 85 Jahre alt und steht sie auf unzusagendem Boden, so leidet sie an Ringschäle (cup-shake). Matouschek (Wien).

Borthwick, A. W., and Wilson, M., A new Larch Disease in Scotland. (Notes Roy. Bot. Gardens Edinburgh. VIII. 1913. p. 79—82.)

Eine Notiz über die Lärchenkrankheit, hervorgerufen durch *Peridermium Laricis* auf *Larix europaea*, neu beobachtet für Schottland im Bezirke Moserness. Der Pilz ist bekanntlich das *Aecidium-Stadium* von *Melampsorium betulinum*.

Matouschek (Wien).

Weir, J. R., Some Observations on *Polyporus berkeleyi*. (Phytopath. Vol. 3. 1913. p. 101.)

Polyporus berkeleyi wurde vom Verf. häufig an *Larix occidentalis* gefunden; der Pilz lebt an Wurzeln, die Wunden aufweisen oder abgestorben sind, und zerstört das Holz.

Riehm (Berlin-Dahlem).

Hardenberg, C. B., The willow tree caterpillar (*Angelica tyrreha* Cr.). A destructive pest in forest plantations. (The Agricult. Journ. of the Union of South Africa. IV. 1912. p. 397—418.)

Die Raupe von *Angelica tyrreha* entblättert namentlich Weiden (insbesondere *Salix babylonica*), Pappeln und Akazien im Gebiete. Das Ende September oder etwas später erscheinende ♀ legt bis 400 Eier. Raupenstadium bis Mitte Januar, Puppenstadium bis September. — Bekämpfung: wohl einzig in der mechanischen Vernichtung aller Stadien des Schädlings (Saturnide) gelegen. Matouschek (Wien).

Scheidter, Franz, Über Generation und Lebensweise des bunten Erlenrüsslers. (Naturw. Zeitschr. f. Forst- u. Landwirtsch. 1913. p. 279—299.)

Der bunte Erlenrüssler, *Cryptorhynchus lapathi* lebt um München, aus welcher Gegend vorliegende Beobachtungen stammen, und wohl auch allgemein, in Gegensatz zu anderen Angaben (z. B. auch in Nüßlins Forstinsektenkunde), in zwei Generationen. Mai bis August werden die Eier an Erlen abgelegt, worauf die alten Käfer absterben. Aus den Eiern schlüpfen erst im nächsten Frühjahr die Larven, die durch ihren Fraß im Erlenholz gewaltigen Schaden anrichten. Sie verpuppen sich ungefähr Ende Juli; nach etwa 14 Tagen schlüpfen die Jungkäfer aus, die den Sommer und Herbst über fressen, sich dann zur Winterruhe begeben; im nächsten Frühjahr fliegen sie aus, es folgt Begattung und Eiablage. In höheren Gebirgslagen verbleiben die Jungkäfer bis zum nächsten Frühjahr in der Puppenwiege. Als Bekämpfungsmittel empfiehlt sich nur rechtzeitige, durchgreifende Entfernung und Verbrennung aller befallenen Pflanzen, vielleicht unterstützt durch Anstreichen des gesunden Holzes mit dem Förster Schmidtschen Mittel gegen Rüsselkäfer. Das Fraßbild ist durch gute Textabbildungen auch Originalaufnahmen erläutert. Rippel (Augustenberg).

Thomas, Fr., Über die mit Frostwirkung verwechselten Minen von *Orchestes (Rhynchaenus) fagi* an *Fagus silvatica*. (Mitteil. d. Thüring. Bot. Ver. N. F. H. 29. 1912. p. 29.)

Die Minen traten Mai 1911 recht häufig im Forstorte Aschburg bei Eisenach auf. Nach früherer Mitteilung von Fickert war der obengenannte Rüsselkäfer sehr schädlich, außer an den Bucheckern auch an Kirschen, Blumenkohl, Beerenfrüchten usw. Verf. meint, es wäre erst zu erweisen, ob wirklich die Nähe der Rotbuche den Kirschbäumen gar so schädlich wäre.

Matouschek (Wien).

Traverso, G. B., *Intorno alla Sphaerella macularis degli autori*. (Atti Acc. Sc. Veneto-Trent. Istriana. V. 1912. p. 1—10.)

Unter *Sphaerella macularis* (auf *Populus tremula* lebender Pilz), hat man, wie Verf. zeigt, 2 verschiedene Arten fälschlich vereinigt. Die Unterschiede werden genau angegeben:

1. *Phaeosphaerella macularis* (Fr.) Trav. (syn. *Sphaeria macularis* Fr., *Sph. Perisporium* Cda., *Sph. geographica* Fr., *Sph. macularis* Awd. p. p., *Sph. maculosa* Sacc., *Phaeosphaerella maculosa* Kst.)... Sporen zuletzt braun, $12-15\ \mu \times 6-7\ \mu$.

2. *Sphaerella tremulicola* (DC.) Trav. (syn. *Sph. lichenoides* var. *tremulaecola* DC., *Sph. macularis* Schm. et Kze. nec. Fr., *Sph. tremulicola* Fr., *Sph. macularis* Awd. p. p.).... Sporen stets hyalin bleibend, $7-9\ \mu \times 2-2,5\ \mu$.

Matouschek (Wien).

Pergande, Theo., *The life history of the Alder blight Aphis* (U. S. Depart. of Agric. Bur. of Ent. Techn. Ser. No. 24. 1912. Fig.).

Prociphilus tessellata Fitch (Erlenblattlaus) lebt am Stamme des Ahorns als Geschlechtsgeneration; auf den gefalteten Ahornblättern und auf der Erlenrinde leben die Migrantes; ihre ungeflügelten Nachkommen auf der Erle werden oft von den Ameisen mit Erdkrusten schützend überwölbt. Die Überwinterung erfolgt auf Erle und Ahorn; doch geht stets von der Erle aus die Neuinfektion des Ahorns. Die Laus (auch *Pemphigus acerifolii* Ril. genannt) wird nicht oft schädlich. Verf., der sich jahrelang mit der Bekämpfung beschäftigte, empfiehlt, das Erlengestrüpp im Herbst und Frühjahr ganz zurückzuschneiden oder gar abzubrennen.

Matouschek (Wien).

Morstatt, H., *Über das Vorkommen von Gespinnsten bei Psociden*. (Zeitschr. f. wissenschaftl. Insektenbiol. 1912. p. 142—147.)

In Zweigen der Gerberakazie, Pflanzung von Amani, wurden Blätter gefunden, die mit einem feinen und zähen weißen Gespinnst überzogen waren. In denselben fanden sich regelmäßig eine Anzahl 1,5 mm langer brauner Insekten, die sich als Psociden herausstellten, in verschiedenen Stadien vor. Enderlein-Stettin bestimmte dieselben als neue Spezies unter dem Namen *Archipsocus textor* Enderlein. Verf. hat den Vorgang des Spinnens selbst beobachtet und gelangt zur Überzeugung, daß der Sitz der Spinndrüsen am Kopf sich befindet.

Der nach unten geneigte Kopf trägt eine große mit zwei seitlichen zitzenförmigen und nach unten gerichteten Lappen versehene Oberlippe. In die Spitze dieser Lappen mündet je eine Drüse, welche hinter einem kurzen Mündungsgang sackartig erweitert ist. Diese beiden Drüsen sind daher als Spinndrüsen anzusehen. Hauptsächlichste Nahrung sind saprophytische Pilze, die Tiere sind äußerst empfindlich gegen Trockenheit. In den Gespinnsten fanden sich noch andere Kleintiere, *Pseudocius*, *Plenariola Morstatti* nov. spec., *oribata* und ein Springschwanz, der sehr schwer zu fangen war.

A. Kirchner (Halle a. S.).

Rothke, Max, *Euparthenos nubilus* Hb. und ihre Entwicklungsgeschichte. (Entomolog. Rundschau. 1912. p. 67—69, 74—76.)

In Pennsylvanien tritt der Falter (welcher abgebildet wird) in 2 Generationen auf: Ende Mai—Juni, Juli—August. Die Raupen der zweiten Generation gelangen noch im Herbst zur Verwandlung, und die überwinterten Puppen liefern dann im Frühlinge die erste Generation. Die Raupe ist lebhaft grasgrün gefärbt, der Kopf stets blaßgelb. Mit den Häutungen ändert sich die Farbe. Sie nährt sich von Akazienblättern (*Robinia*). Zuerst bohrt sie kleine Löcher in die Blätter (siebartig), später sieht man nur die Blattnerven; größere Raupen fressen weniger und zwar bei Nacht. Die Aufzucht der Raupen gelang. Die Puppe liegt in der Erde und ist der *Catocala* sehr ähnlich. *Dyar* hat aber Recht, wenn er für den Schmetterling eine neue Gattung schuf. **Matouschek** (Wien).

Turconi, Malusio, *Sopra una nuova specie di Cyndrosporium parassita dell' Ilex furcata* Lindl. (Atti d. Ist. botan. d. Univ. di Pavia. Ser. II. Vol. 9. 1911. p. 28—30.)

Auf lebenden Blättern der genannten *Ilex*-Art fand Verf. im botanischen Garten zu Tessin den neuen Pilz *Cyndrosporium Pollacci*, der durch Fleckenbildung und durch die Sporengröße sich gut von den ähnlichen Arten unterscheidet. **Matouschek** (Wien).

Wanach, Über einige Schädlinge. (Berliner entomol. Zeitschr. Bd. 57. p. 22—23.)

1. *Pamphilus* (*Neuroterus*) *flaviventris* Ratz. — V. Ferrant meint, daß dieser *Crataegus* schädling eine zweijährige Generation habe. Verf. sah aber in einem Zuchtkasten, der im Freien gehalten wurde, schon im Mai (nicht August) neue Männchen und Weibchen.

2. *Hylotoma* (*Arge*) *pagana* Panz. — Die Larven fraßen das Vorjahr (September) einen wilden Rosenstrauch total ab. Im nächsten Mai schlüpften beide Geschlechter regellos durcheinander aus.

Matouschek (Wien).

Němec, Bohumil, Zur Kenntnis der niederen Pilze. IV. *Olpidium Brassicae* Wor. und zwei *Entophlyctis*-Arten. (Bull. intern. de l'Acad. d. Scienc. de Bohême. Prague 1912. 11 pp. 2 Taf.)

Das *Olpidium Brassicae* ist ein sehr verbreiteter Parasit, besonders findet man ihn regelmäßig in den Pflanzen, welche auch *Plasmodiophora Brassicae* beherbergen. Das *Olpidium Borzi* de Wildem. (1893) dürfte vielleicht mit dem Genus *Pleotrachelus* verwandt sein. Bezüglich der ersteren Art gab es noch folgende ungeklärte Momente: Kernteilungen, Bildung der Schwärmsporen, Entwicklung und Struktur des Entleerungsschlauches sowie der Dauerzysten. Diese Momente untersuchte der Verf.: Die einkernigen Parasiten wachsen stark, ehe sie zur ersten Kernteilung schreiten. Vor derselben wird der Kern sehr groß. Interessant ist die konstante exzentrische Lagerung des Kernes in der kugligen Zelle. Vierkernige Stadien sind recht häufig, es entstehen bis 64 Kerne. Die Zahl der Teilungen hängt mit der Ernährung und dem Wachstum des Parasiten zusammen, da verschieden große Parasiten zur Zoosporen-

bildung schreiten können. Vor der letzteren verändert sich die Struktur der Zelle, indem die größeren Vakuolen verschwinden, das Zytoplasma gleichmäßig feinkörnig und ziemlich stark diffus tingierbar wird, die Nukleolen der Kerne werden viel kleiner, der Kerninhalt aber grobkörnig. Inzwischen hat sich der Parasit mit deutlicher Membran umgeben, an deren einer und zwar zur Peripherie der Wurzel gekehrten Seite der Entleerungsschlauch auszuwachsen beginnt; er ist an der Basis etwas eingeschnürt, seine Membran ist dünner als jene des Zoosporangiums. In sein Zytoplasma wandern Kerne ein. Das Zytoplasma zerfällt in einkernige Zoosporen. Der Entleerungsschlauch entsteht als eine papillenähnliche Ausstülpung immer an der zur Peripherie der Wurzel gekehrten Seite des Zoosporangiums. Er entleert sich im Wasser schnell, worauf sich rasch viele Zoosporangien entleeren. Die Zysten waren einkernig. Die Entleerungsschläuche schlagen konstant den radiären Weg ein; die Ursache ist wohl der von außen in die Wurzel eindringende Sauerstoff. In den Kulturen kamen später aber auch Parasiten zur Ausbildung, deren Zoosporangien mit einer derberen Membran versehen waren, oblonge Form zeigten und mehrere Entleerungsschläuche bildeten. Sie befanden sich immer in der Rhizodermis oder in der äußeren Rindenschicht, wo *Olpidium Brassicae* nicht anzutreffen war. Wahrscheinlich ist dieser Parasit *O. Borzii*. Die Größe beider Arten variiert stark.

In den Rindenzellen der dünnen Wurzeln von *Brassica oleracea* fand Verf. häufig den Parasiten *Entophlyctis Brassicae* n. sp. Er unterscheidet von den anderen (in Characeen und Algen lebenden) Arten durch folgende Merkmale: Anfangs ist er nackt; ein Zapfen, mit dem der Parasit an die Membran befestigt wäre, ist nicht zu sehen. Der Schlauch wird in die Wirtszelle entleert. Die Haustorien faßt Verf. als kernlose Pseudopodien auf, die sich später verzweigen und mit einer Membran zuletzt umgeben.

In den Wurzeln von *Salicornia herbacea* (im Gewächshaus kultiviert) fand Verf. *Entophlyctis Salicorniae* n. sp.: Größer als vorige Art, mit einem Vegetationskörper, der zuerst der Membran der Wirtszelle ansitzt, später frei wird. Er hat ein starkes Haustoriensystem, das intramatrikal bleibt und die Wirtszelle nicht verläßt. Aus diesem Körper wächst zuerst ein recht langer Faden aus, der sich am Ende verzweigt; der Körper ist einkernig, verwandelt sich in ein Zoosporangium oder zu einer Dauerzyste, welche eine sternförmige Gestalt hat. Während der Ausbildung der Zyste stirbt das Haustorium ab. Beide Arten sind wohl Halbparasiten, da sie meist in schon abgestorbenen Zellen auftreten.

Matouschek (Wien).

Martelli, G., *Le Pieris brassicae e P. rapae parassite del Capparis rupestris.* (S. A. aus *Memorie Accad. Zelanti [Acireale]*. VII. 4 pp.)

Larven von *P. Brassicae* und *P. rapae* greifen Kapernblätter an; die Imagines legen ihre Eier auf Kapern ebenso gern wie auf Kohlpflanzen und in der Nähe dieser; der Kaper darf als ein gewöhnlicher Wirt betrachtet werden.

Pantanelli (Rom).

Chittenden, F. H., *The broad-bean Weevil.* (U. S. Dep. of Agric. Bur. of Entom. Bull. Vol. 96. P. V. 1912.)

Laria rufimana Boh. (Borkenkäfer) ist seit 1909 in einigen Gegenden Kaliforniens ein arger Schädling der Bohnen. Daher entwirft Verf. ein genaues Bild der Entwicklung. — Bekämpfung: Das infizierte Saatgut wird mit heißem Wasser oder Schwefelkohlenstoff bzw. Blausäure behandelt. Die Käfer kommen zum Vorschein, wenn die befallenen Bohnen in einem warmen Raume liegen gelassen werden. Wird das Saatgut unter dichtigem Abschluß für das folgende Jahr liegen gelassen, so erscheinen die Käfer auch, sie können aber im trockenen Materiale sich nicht weiter vermehren.

Matouschek (Wien).

Hegy, Dezsö, *Marssonina Kirchneri* Hegyi n. sp. (Magyar botanikai lapok. Bd. 10. p. 317—319.) [Magyar. u. deutsch.]

Der neue Schädling des Dillkrauts (*Anethum graneolens* L.) zeigt seine Sporenlager auf allen Organen dieser Pflanze (exkl. Frucht). Konidienträger olivengrün, einzellig; farblose Konidien von den Dimensionen $28-46 \mu \times 7-9 \mu$, gerade oder sichelförmig gekrümmt, doch an beiden Enden gestutzt kegelförmig verjüngt, mit je 2 Öltropfen. Das Kraut wird verunziert, es kauft solche Dill niemand. Die Früchte kamen aber zur Entwicklung. Nähere Untersuchungen wird Verf. später, nach Anstellung von Infektionsversuchen, veröffentlichen.

Matouschek (Wien).

Chittenden, F. H., A little known Cutworm. (U. S. Dep. of Agric. Bur. of Entomol. Bull. Vol. 119. P. IV. 1912.)

Die Raupe von *Porosagrotis vetusta* Walk verursacht an verschiedenen im Garten kultivierten Gewächsen, besonders an der Melone, starken Schaden. Bleiarsenatbespritzungen bewährten sich recht gut.

Matouschek (Wien).

Hanzawa, J., Über das Welken der Gurkenpflanzen. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1913. p. 65—72.)

Im Gewächshaus der japanischen Universität Sapporo trat März 1911 eine bis dahin unbeobachtete Erscheinung an Gurkenpflanzen auf: die Blätter welkten und starben später ganz ab; die Krankheit erstreckte sich schließlich bis unten auf die Stengel; die Früchte blieben zu Beginn der Krankheit verschont, wurden später aber ebenfalls in Mitleidenschaft gezogen. Als Krankheitsursache stellte Verf. einen zu den *Hypocreales* gehörigen neuen Pilz fest, den er als zur Gattung *Nectriella* gehörig erkennt und als *Nectriella Cucumeris* n. sp. bezeichnet. Beschrieben werden Konidien (oberflächlich an den befallenen Stengeln), Chlamydosporen, Perithezien (oberflächlich an Wurzeln, auch innerhalb der Erde, seltener an oberirdischen Teilen). Infektionsversuche mit Schlauchsporen und *Fusarium*-Konidien ergaben das typische Krankheitsbild. Als Vorbeugungsmittel könne Sterilisation der Erde dienen, da die Infektion nur von den Wurzeln aus erfolge, was Verf. allerdings nur andeutet, ohne diesbezügliche Versuche zu erwähnen. Weiter werden noch einige ganz allgemeine Bekämpfungsmethoden erwähnt.

Rippel (Augustenberg).

Trinchieri, G., *Nuovi micromiceti di piante ornamentali*. (Bull. R. Orto Bot. di Napoli. Vol. 3. 1911. 8 pp.)

Phyllosticta Ardisiae auf lebenden Blättern von *Ardisia humilis*; *Phyllosticta osmanthicola* auf Blättern von

10*

Osmanthus fragrans; *Macrophoma Anthurii* auf trockenen Blütenschäften von *Anthurium Hookeri*; *Gloeosporium sycophilum* bewirkt eine Anthraknose auf Blättern von *Ficus elastica*.
Pantanelli (Rom).

Chittenden, Fred, J., Bulbs destroyed by Grubs. (The Gard. Chron. Vol. 50. p. 27.)

Merodon equestris wurde in den Zwiebeln von *Hippeastrum*, *Vallota* und *Habranthus pratensis* gefunden.
Riehm (Gr.-Lichterfelde).

de Man, J. G., *Odontopharynx longicaudata* n. g. n. sp. Eine neue Form von Anguilluliden. (Zool. Jahrb., Abt. f. System., Geograph. u. Biol. d. Tiere. Bd. 33. p. 637—642. Taf. 13.)

Verf. fand die neue Gattung mit *Diplogaster longicauda* Claus, *Rhabditis teres* (A. Schneider), *Cephalobus ciliatus* v. Linsl., *C. persegnis* Bast., *Plectus granulosus* Bast., einigen *Dorylaimus*arten, 1 *Aphelenchus*art usw. in erkrankten Hyazinthenzwiebeln, die er aus dem phytopathol. Institut von Wageningen von Prof. Dr. Ritzema Bos erhielt, in dem faulenden braunen Gewebe am oberen Ende der Zwiebeln. *Odontopharynx* n. g. ist mit *Mononchus* und *Diplogaster* verwandt, unterscheidet sich aber, außer durch andere Merkmale, durch einen ganz merkwürdigen Bau des Oesophagus.
F. Ludwig (Greiz).

Politis, J., Una nova malattia del mughetto (*Convallaria majalis*) dovuta alla *Botrytis vulgaris*. (Riv. di Patol. veg. Vol. 5. p. 145—147.)

Blätter und Blütenschäfte der Maiblume wurden 1912 in Pavia vom Traubenschimmel schwer angegriffen. Impfung der *Botrytis*-Konidien erzeugte wiederum die Krankheit.
Pantanelli (Rom).

Mercer, W. B., On the Morphology and Development of *Phoma Richardiae* n. sp. (Mycol. Centralbl. Bd. 2. 1913. p. 244—253, 297—305, 326—331, 6 Fig.)

Auf absterbenden Blättern von *Richardia africana* trat neben anderen saprophytischen Schimmelpilzen auch eine Pyknidenform auf, die als die neue Art *Phoma richardiae* beschrieben wird. Der Pilz wurde vom Verf. in Kultur genommen und bot manches Interessante.

Die Kultur wurde nicht bloß auf Gelatine und Agar durchgeführt, sondern auch auf natürlichen festen Substraten, wie Bananen, Mohrrüben, Radischen, Holz, Kartoffel usw. Besonders das letzte Substrat erwies sich als recht günstig. Der Pilz besitzt außer den Pykniden noch Konidien, am älteren Mycel entstehen Gemmen.

Die Pykniden sind von sehr verschiedener Gestalt und Größe, bald mit Hals, bald halslos, anfangs gelb, zuletzt braunschwarz. Der Hohlraum ist dicht mit Sporen vollgestopft. Die Entstehung der Anlage der Pyknide erfolgt entweder durch dichte Verflechtung von Fäden oder durch vielfache Teilung eines Fadenstückes, das dann später von Hüllfäden umgeben wird. Direkt an der Innenwand ohne jedes Sterigma entstehen die Pyknosporen, die hyalin, eiförmig und ungeteilt sind. Die Pyknosporen keimen entweder

in ein Mycel aus oder bilden Konidienketten, Gemmen oder höchst selten durch wiederholte Teilungen Pykniden.

Als Konidien kommen eiförmige, braunschwarze, mauerförmig geteilte, in Ketten zusammenhängende Sporen in Betracht, die meist an kurzen, ungeteilten Trägern entstehen; die Ketten können einfach oder seltener verzweigt sein. Man kann diese Konidien zur Formgattung *Alternaria* rechnen.

Die am Mycel entstehenden Gemmen können einzeln oder in Ketten entstehen, auch traubig gehäufte Massen bilden. Ihre Entstehung erfolgt meist erst in älteren Kulturen.

Von besonderem Interesse ist die Prüfung der Frage, ob von dem Pilz toxische Produkte abgeschieden werden, welche ihm selbst gefährlich werden können. Zweifellos findet eine solche Absonderung statt, aber es konnte nicht festgestellt werden, was es für ein Stoff ist. Vielleicht kommt am ehesten Oxalsäure in Betracht, mit der einige Versuche gemacht worden sind.

Lindau (Berlin).

Cavara, F., *Bacteriosi del Giaggiolo*. (*Iris pallida* Lam.) Nota preliminare. (Bull. d. soc. botan. ital. 1911. p. 130—134.)

In der Provinz Florenz trat auf *Iris pallida* eine Krankheit auf, bei welcher zunächst die Blätter zum Welken gebracht, sodann aber die Gewebe der ganzen Pflanze in eine schleimige, stinkende Masse verwandelt wurden. Verf. isolierte Bakterien aus erkrankten Irisblättern und impfte damit gesunde Pflanzen. Dieselben erkrankten in kurzem unter den oben geschilderten Symptomen.

W. Herter (Tegel).

Lengerken, H. von, Beitrag zur Lebensgewohnheit von *Otiorynchus rotundatus* Siebold. (Zeitschr. f. wissensch. Insektenbiol. IX. 1913. p. 7—12.)

Fast alle *Syringa*-Sträucher um Danzig sind von dem genannten Rüsselkäfer befallen, aber nur diese. Doch wird namentlich die großblättrige Syringe bevorzugt. Die Fraßbilder sind abgebildet. Im Juni kommen die Käfer erst zum Vorschein; die Weibchen fressen stärker als die Männchen. Die Eier werden an den Wurzeln des Wirtes abgelegt in geringer Tiefe. Am Tage liegen die Käfer unter Blättern, Steinchen, in der Erde. An den in einer Nacht ausgefressenen Buchten in den Blättern wird in der Folge nie weitergefressen.

Matouschek (Wien).

Wolff, F. A., The perfect Stage of *Actionnema Rosae*. (Bot. Gaz. LIV. p. 218—234. 1 Tabl.)

Im Herbste sammelte Verf. die vom Pilz befallenen Blätter und überwinterte sie im Freien in Drahtkäfigen. Im April entwickelte sich die zugehörige Ascusform, für die das neue Genus *Diplocarpon* aufgestellt wird. Diese wird zu den Mikrothyriaceen gezählt, ist aber sonst recht merkwürdig gebaut: Ein rundliches, unter der Kutikula liegendes Schildchen besitzt ein eingesenktes Apothecium. Letzteres öffnet sich sternförmig-lappig. Die zu acht im Ascus liegenden Sporen sind hyalin. In der Kultur gehalten, keimten die Sporen nicht; stets aber keimten sie auf Rosenblättern im feuchten Raume, wenn auf diesen Wassertropfen lagen (nach 1 Tage schon). Die Askosporen übertrug Verf. auf frische Rosenblätter, wo sie

regelmäßig das *Actinonema* bildeten. Der Bau und die Keimung der Konidien zeigte, daß dieser Pilz eine *Melanconiacee* ist, die aber durch die subkutikuläre Entstehungsweise sich von *Marsonia*-Arten abhebt. *Gnomoniella Rosae* (Fuck.) Sacc. gehört also nicht zu *Actinonema Rosae*, wie Laubert und Schwartz glauben. Matouschek (Wien).

Dowson, W. J., Über das Mycel des *Aecidium leucospermum* und der *Puccinia fusca*. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1913. p. 129—137.)

Verf. untersuchte Rhizome von *Anemone nemorosa*, die von den beiden Rostpilzen *Aecidium leucospermum* D. C. und *Puccinia fusca* befallen waren. Das Mycel der beiden Pilze findet sich in den embryonalen Geweben von Rhizom und Knospen (Periblem, Plerom, Dermatogen), niemals in den eigentlichen Leitbündeln, also Siebteil und Tracheenteil; nur in der Parenchymscheide konnte Verf. es beobachten. Das Mycel ist interzellulär und intrazellulär; die Zellen sind einkernig, Aecidiensporen und Peridiumzellen von *Aecidium leucospermum* zweikernig. Die Hyphen wachsen durch die Tüpfel von Zelle zu Zelle. In den Zellen finden sich nicht nur Haustorien, sondern auch völlig gerade verlaufende Hyphen. Die Haustorien sind seltsame, knäuelige Gebilde mit vielen, manchmal in die Länge gezogenen und gebogenen Kernen. Durch Infektionsversuche gedenkt Verf. später die Identität des untersuchten Mycels mit dem der beiden genannten Pilze sicherzustellen und einige Punkte, wie die Lage der Zellkerne in der Nähe der Haustorien, weiter zu klären.

Rippel (Augustenberg).

Zellner, Julius, Zur Chemie der höheren Pilze. IX. Über die durch *Exobasidium Vaccinii* Woron auf *Rhododendron ferrugineum* L. erzeugten Gallen. (Anzeig. d. ksl. Akad. d. Wiss. Wien, math.-nat. Kl. 1912. No. XX. p. 409.)

Sowohl im befallenen Blatte als auch in der Galle fand Verf.: Fett, 2 Körper der Phytosterin-Gruppe, Harz, Chlorophyll, Phlobaphen, Traubenzucker, Gerbstoffe, organische Säure, amorphe Kohlehydrate. Nur Terpen und Stärke — in den Blättern vorhanden — fand er nicht in den Gallen. Die Galle enthielt auch keine charakteristischen Pilzstoffe, wohl aber ist sie arm an in Wasser unlöslichen Stoffen, reich aber versehen an wasserlöslichen, osmotisch wirksamen Körpern (Zucker, organische Säuren, Mineralsalze); die amorphen Kohlehydrate sind angereichert, Gerbstoffe vermindert. Der Pilz ruft bei der Gallenbildung Prozesse hervor, die den bei der Bildung saftiger Früchte verlaufenden in mehrfacher Beziehung analog sind.

Matouschek (Wien).

Montemartini, L., Una nuova malattia della Sulla: *Anthostomella Sullae* n. sp. (Riv. di Patol. veg. IV. 1910. p. 165).

Eine Blattfleckenkrankheit der Sulla (*Hedysarum coronarium*) wird bei Rimini (Aemilien) von *Anthostomella sullae* n. sp. mit der Pyknidienform *Leptothyrium sullae* n. sp. verursacht. Von beiden Formen wird die Diagnose angeführt. Pantanelli (Rom).

Martini, W., *Graptolitha* Hein. (*Laspeyresia* Meyr.) *oxytropidis*, eine neue Wicklerart aus Thüringen. (Deutsche entomol. Zeitschr. „Iris“. 1912. p. 95—100.)

Die neue Art ist charakterisiert durch die gleichmäßige Dichte, gelbe Beschuppung und die scharfen schwarzen Saumlinien. Die Raupe lebt in Schoten von *Oxytropis pilosa*. In der 2. Julihälfte ist der Schmetterling am häufigsten — an diversen Orten Thüringens — zu sehen; die Flugzeit ist sehr ausgedehnt. Aus den Räupchen zog Verf. die Schlupfwespe *Ascogaster quadridentatus*.
Matouschek (Wien).

Moreau, Mme F., Sur l'existence d'une forme écidienne uninucléée. (Bull. Soc. Mycol. France. T. 27. p. 489—493.)

Die cytologische Untersuchung eines auf *Euphorbia silvatica* parasitisch lebenden *Aecidium* hat ergeben, daß diese Uredinee in diesem Stadium der Entwicklung ausnahmsweise nur einkernige Zellen aufweist. Im Gegensatz zu dem von Maire bei *Endophyllum valerianae tuberosae* beobachteten Fall, wo die ausgebildeten Aecidiosporen durch Degeneration des zweiten Kernes nur einen Kern enthalten, ist hier das vollständige Ausbleiben einer Verdoppelung der Kerne bei der Bildung der Aecidien von vornherein festzustellen.

Lakon (Tharandt).

Barger, Al., *Sesia annellata* Z. und *S. empiformis* Esp. (Jahrb. d. entomol. Vereinig. Sphinx in Wien. 1912. p. 28—29.)

Notizen über die einjährige Raupe der ersten Art, welche in der Wurzel von *Ballota nigra* lebt und diese aushöhlt.

Häufiger erscheint in N.-Österreich die 2. Art. Die Raupe ist auch einjährig und lebt in der Wurzel und im Stengel der Cypressenwolfsmilch und der *Euphorbia esula*. Ein Kennzeichen für die Anwesenheit der Raupe ist an den Nährpflanzen nicht wahrzunehmen. Ist der Stengel der überwinterten dünnen Stengel nahe der Wurzel hohl, so findet man die Raupe sicher. Sie lebt nur einzeln.

Matouschek (Wien).

Hunter, H. D., Pratt, F. C. and Mitchell, J. D., The principal Cactus Insects of the United States. (U. S. Dep. of Agric. Bur. of Entomol. Bull. 113. 1912. 7 pl.)

Schädliche Arten auf *Opuntia* sind: *Copestylus marginatum* Say, *Stictomyia longicornis* Big. und *Hermetia* sp. (alle drei Fliegen). Doch sind sie nur solche zweiter Ordnung, die nach dem Primärangriff durch andere Tiere und zwar der wichtigsten Schädlinge, die eingehend besprochen werden, oder im Gefolge anderer Schädigungen in Betracht kommen. — Es folgt ein genaues Verzeichnis der Schädlinge überhaupt, ihrer natürlichen Feinde, der regelmäßigen Blütenbesucher, ferner ein solches der nur vereinzelt oder zufällig an der *Opuntia* anzutreffenden Tiere. Zuletzt ein genaues Verzeichnis der Literatur.

Matouschek (Wien).

Magnus, P., Die Verbreitung der *Puccinia Geranii* Lev. in geographisch-biologischen Rassen. (Ber. d. deutsch. botan. Gesellsch. 1913. p. 83—88.)

Die Ähnlichkeit der in Europa nur auf *Geranium silvaticum* lebenden *Puccinia Geranii silvatici* G. Karst. mit der in Chile auf *G. rotundifolium* lebenden *P. Geranii* Lev. (unter anderen bilden beide nur Teleutosporen) veranlassen Verf. zu einer Nachprüfung. Diese beiden erwähnten Puccinien erkennt er als morphologisch identisch, ferner auch die als *P. Geranii silvatici* Karst. von G.

Richardsoni Firt. und Trant., *G. venosum* Rgdb. (beide Utat) und die aus Asien (Simla) ebenfalls als *P. Geranii silvatici* Karst. auf *G. nepalense* Sweet beschriebenen *Puccinia*. An letztere schließt sich, allerdings schon einige Unterschiede zeigend, *P. Saniensis* P. Magn. vom Libanon an. Dagegen ist die als *P. Geranii silvatici* auf *G. sessiflorum* (Valdivische Anden) beschriebene *Puccinia* mit *P. Callaquensis* Neger als *P. Callaquensis* Neger vel. mult. aff. zu vereinigen. Es ergibt sich also ein sehr zerstreutes Verbreitungsgebiet der morphologisch gut charakterisierten Art *Puccinia Geranii* Lev., die nur im südlichen Asien bereits einige kleine morphologische Änderungen zeigt; sie tritt in den einzelnen Gebieten auf bestimmten Wirtspflanzen auf. Verf. vermutet, daß Kulturversuche diese geographischen Rassen auch als biologische Rassen erweisen würden. Rippel (Augustenberg).

Chittenden, F. H., *The Cowpea Weevil*. (U. S. Dep. of Agricult. Bur. of Entom. Bull. 96. Part IV. 1912, w. 1 pl.)

Pachymerus chinensis L. (Kuhbohnenkäfer, *Cowpea weevil*) lebt auf diversen Futterpflanzen. Seine Lebensweise stimmt in sehr vielen Punkten mit der des gewöhnlichen Bohnenkäfers überein. Nach Angabe der Verbreitung des Schädling gibt Verf. als das beste Bekämpfungsmittel Schwefelkohlenstoff und Blausäure an.

Matouschek (Wien).

Ainslie, G., *The Cowpea Curculio*. (U. S. Depart. of Agricult. Bur. of Entomol. Bull. No. 85. Part 8. p. 14.)

Eine genaue Darstellung der Entwicklung und Biologie des Schädling *Chalcodermus aeneus* Boh. Er schädigt Erbsen, Bohnen, Baumwolle und so manche andere Pflanzen. Die Bekämpfungsmittel werden angeführt.

Matouschek (Wien).

Reinberger, *Futterpflanzen der Zygaenen-Raupen*. (Zeitschrift f. wissensch. Insektenbiol. VIII. 1912. p. 386.)

Die Raupe von *Zygaena meliloti* Esp. fand Verf. in Ostpreußen (bei Lyck) regelmäßig auf *Trifolium alpestre* L.

Matouschek (Wien).

Webster, F. M., *The Clover Mite* (U. S. Dep. of Agric. Bur. of Ent. Circ. 158).

Bryobia pratensis (Kleemilbe) schädigt außer den Rotklee andere Kleearten, Gräser, auch Buchweizen. Im Eistadium überwintert sie an Bäumen. Sie kommt im Herbst, nicht selten bis Frühjahr in Menge in die menschlichen Wohnungen. Gegen die Eier nützt eine kräftige Petroleumemulsion. Gegen die Tiere ein Bespritzen mit folgender Flüssigkeit: In 100 Gallonen kommen 1 Pfd. Schwefel und 1 Pfd. Schmierseife. Es wirkt auch der Geruch von Flohkräutöl. Als natürliche Feinde bezeichnet Verf.: die Raupe der Kleidermotte und die Larve des *Scymnus punctum* Lec. (Kugelkäfer).

Matouschek (Wien).

Hedlund, T., *Om klöfvertrött jord*. [Kleemüdigkeit des Bodens.] (Tidskr. Landmänn. Bd. 34. 1912. p. 921—926.)

In Südschweden tritt der Kleekebs oft auf, 1912 besonders. Mitteilung von Schutzmaßnahmen gegen diesen durch *Sclerotinia Trifoliorum* und *Mitrella Sclerotiorum* verursachten Krebs.

Matouschek (Wien).

Osborn, H., Economic Importance of *Stictocephala*. (Journ. of Econ. Entom. 1911. p. 137.)

Die Zikade *Stictocephala festina* Say. schädigte in den letzten Jahren sehr stark Klee und Luzerne. Ganz gleich schädigend tritt *St. lutea* und *inermis* auf. Der Schaden ist folgender: Durch das Anstechen wird Saft entzogen, die Triebspitzen welken ab und vertrocknen.

Matouschek (Wien).

Martelli, G., Primo contributo alla biologia del *Phytonomus variabilis*. (Bull. Labor. Zool. Agraria. Portici. 5. p. 221—230.)

Luzerne wurde 1909 von *Phytonomus variabilis* bei Neapel erheblich geschädigt; auf diesem Käfer fand Verf. drei Parasiten: *Canidia curculionidis* Thoms. (Ichneumonidae), *Eulophus* sp. und *Eutelus* sp. (Chalcididae), in Sizilien auch *Pimpla maculator* F. Allerdings wird *Canidia curculionidis* von Hyperparasiten (*Habrocytus*, *Chalcis*, *Dibrachys buceanus*) verfolgt.

Pantanelli (Rom).

Stift, A., Zur Geschichte des Wurzeltöters oder der Rotfäule (*Rhizoctonia violacea* Tul.). (Österr.-ungar. Zeitschr. f. Zuckerind. u. Landwirtsch. Jg. 42. 1913. p. 445.)

Die Krankheit ist schon seit den 50er Jahren des vorigen Jahrhunderts bekannt, möglicherweise aber noch früher in Frankreich aufgetreten. Die ersten genauen Mitteilungen und Beschreibungen rühren von Julius Kühn aus dem Jahre 1853 her, der den die Krankheit verursachenden Pilz auf Futter- und Zuckerrüben und auf Möhren fand. Kühn sandte den Pilz zur Bestimmung an Rabenhorst, der ihn *Helminthosporium rhizoctonon*, zu Deutsch „Rübenfäule“ nannte. Montague zeigte später, daß der Pilz identisch mit dem im südlichen Frankreich sehr häufig und verderblich nicht nur auf Luzernefeldern, sondern auch auf den Wurzeln anderer Kulturgewächse auftretenden „Wurzeltöter“ *Rhizoctonia violacea* Tul. (*Rhiz. Medicago* D. C.) ist. Kühn war bezüglich der Stellung des Pilzes mit Montague der gleichen Ansicht. Auf Grund der ihm zugänglichen Literatur gibt nun der Verf. eine chronologische Darstellung über die Entwicklung und die Verbreitung der Krankheit von der ersten Beobachtung Kühns bis zu der Anfang 1913 erschienenen Arbeit Erikssons, in der dieser Forscher die vielumstrittene Frage nach der Gruppenzugehörigkeit des unfruchtbaren, *Rhizoctonia violacea* genannten Myceliums für gelöst hält. Er gibt ihm den Namen *Hypochnus violaceus* (Tul.) Eriks. (wobei er sich allerdings auf die Formen des Pilzes, welche die Möhre beschädigen, zweifellos aber mit den auf der Zuckerrübe vorkommenden identisch sind, bezieht). Was nun das „Charakterbild“ der Krankheit anbetrifft, so hat sie wohl in früheren Jahren manchmal Anlaß zu Beunruhigungen gegeben, hat aber jetzt zumeist mildere Formen angenommen, ist gerade nicht selten, durchaus aber nicht häufig und zumeist spontan auftretend. Immerhin erscheint aber Vorsicht geboten, die bei einem stärkeren Auftreten der Krankheit an Vorsichtsmaßregeln denken läßt. Kranke Pflanzen sind sofort aus dem Felde zu entfernen, mit Kalk zu kompostieren oder in einer Jauchegrube zu intensiver Fäulnis zu bringen, keinesfalls dürfen diese Rüben eingemietet werden. Auch nur leicht erkrankte Wurzeln dürfen nicht verfüttert werden. Von Vorteil ist eine Kalkdüngung im Herbst und ein schweres

Walzen im Frühjahr. Doch, wo die Krankheit sich häufiger zeigt, ist auch an eine Drainage des Feldes zu denken. Von besonderer Wichtigkeit ist aber die Fruchtfolge unter Ausschluß aller anfälligen Pflanzen, wie Klee, Luzerne, Möhre, Kartoffel, Turnips, auch Unkräuter, z. B. die Gänsedistel, sind zu vernichten. Eriksson empfiehlt auch den verseuchten Boden mit Schwefelwasserstoff zu desinfizieren (50 g auf 10 l Wasser; 40 l genügen für 15 qm).

Autoreferat.

Eriksson, Jacob, Études sur la maladie produite par la *Rhizoctonia violacée*. (Rev. gén. de Bot. T. 25. 1912. p. 14—31.)

Rhizoctonia violacea tritt auf unterirdischen Organen von vielen Pflanzenarten auf, z. B. *Daucus*, *Beta*, also bei Arten, die systematisch weit voneinander stehen. Er ist hierbei stets steril. Impfversuche zeigten dem Verf., daß er wohl je nach der Art spezialisierte Rassen bildet. Er erscheint zumeist da als ein Filz von oft violetter Farbe und bildet Sklerotien aus. Die fertile Form tritt aber nach Verf. auf anderen Pflanzen auf, z. B. *Urtica dioica* oder *Galeopsis tetrahit* und stellt dann einen *Hypochnus* vor, der, zu den Autobasidiomyceten gehörend, Basidiosporen erzeugt. Es gehören diese Pilze also zusammen, nur leben sie auf verschiedenen Wirten.

Matouschek (Wien).

Jablonowski, J., Beiträge zur Kenntnis der Lebensgeschichte einer für Ungarn neuen Acaridenart. (Allatani közlemények. Bd. 9. p. 210.)

Rhizoglyphus crassipes Hall., neu für Ungarn, entwickelt sich meist in den Nestern des *Lethrus apertus* Laxm., kommt aber auch auf faulenden Rübenwurzeln vor. Welche Rolle er da spielt, ist fraglich.

Matouschek (Wien).

Friederichs, Beobachtungen über *Phosphuga atrata* L., ihre Nahrung und die einiger anderer Silphini. (Ztschr. f. wissenschaftl. Insektenbiol. 1912. p. 348—352.)

Verf. berichtet, daß die Ansicht Ganglbauers, daß *Phosphuga atrata* Schnecken frißt, nach seinen eigenen Beobachtungen richtig und daß die Annahme der Schädlichkeit für Rüben auf einer Verwechslung mit *Blithophaga*-Arten beruhen dürfte.

Silpha obscura L. kommt nach Ansicht des Verf. auf Grund seiner Beobachtungen als großer Schädling bei Verwüstungen der Rübenfelder mit in Betracht. *Blitophaga undata* hat Verf. längere Zeit gefangen gehalten und durch Fütterung mit Melde, Rüben, Getreide, Klee und Luzerneblättern ernährt. Zu einer Eiablage sind die Tiere jedoch nicht gekommen, und ist die Annahme, daß zum Fortpflanzungsgeschäft vielleicht animalische Nahrung nötig ist, gerechtfertigt. Verf. rät zur Vervollständigung der biologischen Wahrnehmungen, die leicht auszuführen sind.

Kirchner (Halle a. S.).

Fahringer, Zur Frage der Ernährungsweise von *Phosphuga atrata* L. (Zeitschr. f. wissenschaftl. Insektenbiol. 1913. p. 207—208.)

Verf. hat nach genauen Beobachtungen weder den Käfer noch dessen Larve an gesunden Rübenblättern nagen sehen, und gelangt auf Grund sorgfältigen Studiums zu der Überzeugung, daß *Phosphuga atrata* L.

nur Jagd auf Insekten, Schnecken und sonstige Rübenschädlinge macht, die zu seiner und der Larve Ernährung dienen. Er beseitigt dadurch jeden Zweifel über die Bedeutung des Käfers als Schädling.

Kirchner (Halle a. S.).

Rossi, R., Alcune notizie intorno a due Cleonini dannosi alle barbabietole da zucchero nella Campania. (Bull. Labor. Zool. Gen. Agr. Portici. 1911. p. 26—42. 1 Taf.)

Conorrhynchus Luigionii Solari überwintert im ausgewachsenen Zustande unter Steinen oder trockenen Blättern oder im Boden bei wenigen cm Tiefe, schlüpft im März aus, frißt die jungen Blätter der Zuckerrübe, paart sich und legt im Mai die mit Schleim zusammengeballten Eier an den Wurzelhals derselben Pflanze. Die Larven gehen dann leicht auf die Wurzeln über, deren Oberfläche sie abkratzen, um eigentümliche Nester darauf zu bauen.

Tiefe Bearbeitung des Bodens, Sammeln der Images und Trennung der Feldparzellen mittels 40—50 cm tiefer, mit senkrechten Fellen in einem Abstände von 10—20 m versehener Gräben werden als Gegenmittel empfohlen. Das Sammeln der Images kann an warmen Tagen morgens, sonst mittags vorgenommen werden, nur in extremen Fällen darf man zu Arsenbrühen seine Zuflucht nehmen. Dieselben Maßregeln haben sich gegen *Lixus junci* Boh. bewährt.

Pantaneli (Rom).

Reitmair, O., Beiträge zur Biologie der Kartoffelpflanze mit besonderer Berücksichtigung der Blattrollkrankheit. (Zeitschr. f. d. landw. Versuchswesen in Österr. Jg. 16. 1913. p. 653.)

Verf. hat sich eingehend mit der Biologie der Kartoffelpflanze und anschließend daran mit der Frage des Abbaues und der Blattrollkrankheit dieser Pflanze beschäftigt und legt seine Erfahrungen in einer umfangreichen Abhandlung nieder. Es ist ihm im Verlaufe seiner Beobachtungen der letzten Jahre immer deutlicher geworden, daß sich einzelne Sorten bezüglich der Veränderung ihrer Entwicklung infolge der Blattrollkrankheit grundverschieden verhalten und wird eine Aufklärung des inneren Zusammenhanges der Veränderungen des anatomischen Baues und der physiologischen Funktionen der Organe gewisser Rassen mit ihrer Reaktionsfähigkeit gegenüber den die Blattrollkrankheit erzeugenden Einflüssen der aussichtsreichste Weg werden, um eine Klassifikation der Rassen im Hinblick auf ihre Güte und Unangreifbarkeit vorzunehmen. Nur in der genauen Kenntnis der Rassen-eigentümlichkeit (rassenbiologischen Forschung) und Rasseneigenschaften liegt die Lösung der dunklen Frage des Abbaues, der ja seit 100 Jahren so häufig behauptet und gespürt wurde, ohne daß man ihn auf exaktem Wege nachweisen konnte. Er besteht aber und kann nicht abgeleugnet werden. Je mehr die reaktionsfähigen Rassen und ihre Verwandten als solche leicht und sicher erkannt und von der Weitervermehrung ausgeschaltet werden, desto mehr wird das drohende Gespenst der Blattrollkrankheit für den Kartoffelbau an Schrecken verlieren.

Stift (Wien).

Schander, R., Neue Studien über die Blattrollkrankheit der Kartoffel. (Jahresber. d. Vereinig. f. angew. Bot. Bd. 7. p. 235.)

Verf. fand, daß Knollen von blattrollkranken Stöcken eine sehr geringe

Keimungsenergie besitzen; die aus solchen Knollen erwachsenden Pflanzen sind wieder blattrollkrank und liefern bei fortgeschrittenerem Krankheitsstadium eine geringe Ernte. Pilzhypen wurden in blattrollkranken Pflanzen nicht immer gefunden; Verf. steht aber nicht auf dem Standpunkt von Reinke und Berthold, die ein pilzfreies und ein pilzhaltiges Stadium annehmen, er läßt vielmehr die Frage nach der Ursache der Blattrollkrankheit noch offen. Versuche, bei denen gesunde Knollen in Boden gelegt wurden, der blattrollkranke Stauden getragen hatte, oder in den Kraut und zerkleinerte Knollen blattrollkranker Stöcke eingebracht waren, verliefen negativ. Durch Transplantation konnte die Krankheit nicht übertragen werden.

Riehm (Gr. Lichterfelde).

Tidswell, Frank, Notes on some Irish Blight Problems. (Sec. Report of the Gov. Bur. of Microbiol. Sydney 1912. p. 172.)

Die durch *Phytophthora infestans* hervorgerufene Krautfäule der Kartoffel trat in Neu-Süd-Wales, besonders in den Küstengegenden auf, wo die Temperatur- und Feuchtigkeitsverhältnisse die Krankheit sehr begünstigen. Es gelang nicht immer, durch vierstündiges Aufbewahren der Kartoffeln in Luft von 49° C den Pilz abzutöten. Versuche, durch Stockauslese widerstandsfähige Varietäten zu bekommen, haben noch nicht zu befriedigenden Ergebnissen geführt.

Riehm (Berlin-Dahlem).

Darnell-Smith, G. P., On the Mode of Dispersal of Irish Blight. (Sec. Report of the Gov. Bur. of Microbiol. Sydney. 1912. p. 174.)

Kartoffeln, die in einem mit *Phytophthora infestans* infizierten Boden ausgelegt wurden, lieferten gesunde Pflanzen. — Verf. versuchte vergeblich Oosporen im Gewebe der Knollen nachzuweisen.

Riehm (Berlin-Dahlem).

Johnston, T. H., On some Fungi found on Potatoes, with special Reference to *Armillaria mellea*. (Sec. Report of the Gov. Bur. of Microbiol. 1910/11. Sydney 1912. p. 177.)

Verf. beschreibt das Vorkommen von *Armillaria mellea* auf Kartoffeln und bildet Knollen ab, die von dem Rhizomorphen des Pilzes umspinnen sind.

Riehm (Berlin-Dahlem).

Heikertinger, Franz, *Psylliodes attenuata* Koch, der Hopfen- oder Hanf-Erdflöhen. II. T. Morphologie und Bionomie der Imago. (Verhandl. d. k. k. zool.-bot. Gesellsch. Wien. Bd. 63. 1913. p. 98—136.)

Die Hopfenkulturen der Holarktis werden ortsweise von *Psylliodes attenuata* Koch in Eurasien und der *Ps. punctatula* Melsh in Nordamerika bedroht. Die letztere Art ist genau studiert, die andere durch die vorliegende Arbeit. Es wird zuerst der allgemeine Charakter der Gattung *Psylliodes* entworfen, dann die Morphologie bis ins Detail ausgearbeitet. Die Differenzierung zwischen *Ps. attenuata* und *Ps. hyoscyami* ist wichtig. Erstere Art ist für das mittlere Europa und Zentralasien bis Ostsibirien nachgewiesen; im Norden und Süden Europas fehlt sie. Sie ist oligophag. Beide eingangs genannten Arten leben auf Hopfen und Hanf, ausnahmsweise auf *Urtica dioica*. Die amerikanische Art, die bis Texas geht, soll auch auf anderen Kulturpflanzen, was Verf. aber bestreitet, vorkommen. *Psylliodes attenuata* überwintert

als Imago, verkrochen in Spalten von Mauer- und Holzwerk, unter Steinen und Abfällen. Ab Ende April verlassen die Käfer die Verstecke; Paarung in der ersten Maihälfte, Eiablage bis Ende Mai. Im Juli geht die vorjährige Generation zugrunde, die folgende lebt noch auf den Pflanzen. Dies gilt auch von der zweiten Art. Die Krankheiten der amerikanischen Art sind nach der Literatur aufgezählt, die der anderen sind bisher unbekannt. Über die Schädlichkeit: Der Fraß der Käfer der vorjährigen Generation besteht in Löchern, die oft zusammenfließen und so das Blatt skelettisieren. Ganz junge Triebe des Hopfens verdorren. Die im Juli erscheinende Generation trifft voll entwickeltes Blattwerk, dem sie wenig anhaben kann. Sie geht daher auf die heranreifenden zarten Fruchtstände, deren Schuppen und Spindeln zerfressen werden. Es kann zur Vernichtung der Ernte kommen. Die Larve lebt in den Fruchtständen sicher nicht. Zum Vergleiche wird die Schädlichkeit der amerikanischen Art herangezogen. Eigene Beobachtungen über den angerichteten Schaden auf Hanf liegen nicht vor. In Amerika arbeitet man mit Spritzmitteln; doch bewährten sich dort geteerte Bretter und „Schlitten“ sehr gut gegen die emporsteigenden Käfer. Solche dürften auch in Mitteleuropa recht brauchbar sein. Die Spritzmittel hätten nur zur Folge, daß die Käfer auf die Endknospen gehen, wodurch der angerichtete Schaden nur um so größer wäre. — Beachtenswert ist das Verzeichnis der Literatur über das Thema; der kurze Inhalt jeder Schrift wird angegeben.

Matouschek (Wien).

Wirtgen, F., Zur Flora des Vereinsgebietes. (Sitzungsber. herausg. v. naturhist. Ver. d. preuß. Rheinlande u. Westfal. 1911. 2. Hälfte. E. p. 160—177. Bonn 1912.)

Folgende teratologische Mitteilungen sind beschrieben:

Umwandlung der Ährchen des *Scirpus caespitosus* in Quasten von Deckblättern; vergrünte Blüten bei *Melandrium album* Garcke, Pelorien bei *Scrofularia nodosa* L., choripetale Blüten bei *Campanula rotundifolia* L., Stammesfasziation bei *Tilia platyphyllos* Scop.

Matouschek (Wien).

Naegeli, O., Über zürcherische Ophrysarten. (Ber. d. Schweizer. botan. Gesellsch. XXI. 1912. p. 171—187, m. 1 kol. Taf.)

In der Arbeit interessiert uns besonders der Abschnitt über die Umwandlung der inneren Perigonblätter zu Blumenblättern und Veränderung des Labells, Flachwerden der Lippe und Fehlen des zurückgeschlagenen Lappens bei *Ophrys apifera* var. *friburgensis* Fr. und *O. Botteroni* Chod. Es werden die zahlreichen Fälle genau erläutert, wobei auf Übergänge des Normaltypus (*O. apifera*) zu den beiden genannten „Formen“ eingegangen wird.

Matouschek (Wien).

Dümmer, R. A., A bisexual „gymnospermous“ *Begonia*. (Ann. of Bot. Vol. 26. 1912. p. 1124—1124.)

Diese teratologische Abnormität fand man unter einer Gruppe normaler Pflanzen von *Begonia semperflorens* var. *gigantea* im botanischen Garten zu Kew. Die Samenknochen lagen ganz frei.

Matouschek (Wien).

Frémy, P., Sur une fascie de *Carlina vulgaris* L. (Bull. de la soc. des Sc. Nat. de l'Ouest de la France. 1912. ½ trim. [Nantes 1913.] p. 43—45.)

Moquin-Tandon berichtet schon von einer Faszie von *Carlina vulgaris*, deren Achse 1 dm breit war. Zu Baubigny (Manche) beobachtete Verf. ein ähnliches Exemplar. Über die zusammengesetzte Platte sind normale und wenig reduzierte Blätter unregelmäßig zerstreut. 3 cm von der Spitze teilt sich der Stamm, ohne seine Breite zu vergrößern, in drei abgeplattete Zweige. Jeder Seitenzweig trägt zwei Köpfe: der eine sehr reduziert und normal aussehend, der andere aber deutlich fasziiert im Innern, doch viermal in sich selbst zurückgekrümmt. Letzterer stellt eine dornige Masse vor, in deren Mitte die Nebenblätter, vertrocknet, sich befinden. Der mittlere Zweig trägt einen einzigen Kopf, auch fasziiert und sechsmal in sich selbst zurückgekrümmt. Blüten und Samen wohl normal. Die mikroskopische Untersuchung ergibt im Stamme eine sehr deutliche bilaterale Symmetrie und eine bemerkenswerte Vermehrung der Anzahl der Holzfasern. Über die Ursachen solcher Mißbildungen zitiert Verf. auch die ältere Literatur. Gegenwärtig betrachtet man die Fasziation als die Folge einer Verwundung. Der ganze Stamm geht aus einer öfters wiederholten Teilung einer Gruppe von an seiner Spitze gelegenen Initialzellen hervor. Funktionieren die Zellen normal, so bilden sie einen radial-symmetrischen Stamm; sind aber einige abgestorbene oder zerstörte vorhanden, so werden die übrigen bloß nach zwei Richtungen sprossen und ein Organ von bilateraler Symmetrie ergeben. Diese Erklärung gab bereits **Moquin-Tandon** 1841 ab, **Sachs** und **Blaringhem** bestätigten sie. Im vorliegenden Falle mußten wohl die Tiere auf dem freien Felde das Sproßende der jungen Pflanze zertreten oder abgefressen haben.

Matouschek (Wien).

Küster, Ern., Über organoide Mißbildungen an Pflanzen.
(Aus d. Natur. Bd. 7. p. 673—685.)

Beispiele für die vom Verf. unterschiedenen organoiden und histioiden Gallen und Mißbildungen. **Matouschek** (Wien).

Gueguen, F., Soudure et fasciation chez quelques Basidiomycètes selon leur mode de groupement. (Bull. Soc. Mycol. France. T. 27. p. 499—504.)

Verf. berichtet über einen Fall von Superposition bei *Clitocybe nebularis* und über einige Fälle von Verwachsung bei *Armillaria mellea*. **Lakon** (Tharandt).

Zametzer, Über merkwürdige Verwachsungen an Waldbäumen. (Mitteil. d. bayer. botan. Gesellsch. z. Erforsch. d. heim. Flora III. 1913. p. 8—9, m. 1. Taf).

Zu Mauth (bayerischer Wald) stehen folgende Verwachsungen von *Fagus silvatica*: Je zwei getrennt stehende selbständige Individuen verwachsen zu einem völlig walzenförmigen Stamm, der sich von der Nachbarschaft in der Höhe nicht unterscheidet. Bei 3,6 m vom Boden vereinigen sie sich zu einem Stamme; die Stammdicke ist 35 bzw. 38 cm. Beim anderen Exemplare verwachsen die Stämme in 7 m Höhe; die Stammdicke der Stämme ist je 25 cm. — Erfolgt ein Zusammenwachsen eines Astes mit einem benachbarten Stamme, so entsteht gewöhnlich ein Reck; die Ursache sind meist Reibungswunden. Hierzu braucht es keinen starken Wind, bei gewöhnlichem Bergwinde hört man oft das laute Ächzen sich reibender Stämme. — Was die Ursache der eingangs erwähnten Verwachsungen betrifft, so sind

wohl durch den hohen Schnee die schlank aufgewachsenen Buchen im Gerstenholzalter zu Boden gedrückt worden; sie lagen lange Zeit aufeinander, an Stellen mit abgeschürfter Rinde trat eine Verwachsung auf, später erst die Aufrichtung. Matouschek (Wien).

Arnaoudoff, N., Quelques cas tératologiques chez les mousses. (Rev. bryolog. T. 39. 1912. p. 50—52.)

Es werden folgende Fälle beschrieben:

Doppelnerv bei *Desmatodon latifolius*;

Eine Rippenlamelle bei *Mnium punctatum* (sonst fehlend);

Eine Blattduplizität bei derselben Art;

Ein Zwillingsporogon bei *Ditrichum tortile*.

Matouschek (Wien).

Dixon, H. N., Abnormality of Moss Capsule. (Rev. bryolog. Vol. 38. 1912. p. 121—124.)

In Darjeeling fand Verf. bei dem Laubmoose *Acanthocladium laxitextum* 50 Proz. der Kapseln mit einem mehr oder minder langen Sporn oder andererseits fadenförmigem Anhang versehen. Es sind dies abgerissene Teile der Seta, bei der Drehung der Seta im entgegengesetzten Sinne (als sonst üblich) entstanden. Ref. hat zuerst solche Anhänge beschrieben und zwar bei *Pohlia nutans* und *Hypnum cupressiforme*, ohne sie aber näher, aus Materialmangel, untersuchen zu können (Zeitschr. d. mähr. Land. Mus., Brünn 1910. Bd. 10. p. 272.)

Matouschek (Wien).

Bornmüller, J., Mitteilungen aus der heimischen Flora. (Mitteil. d. Thüring. botan. Ver. N. F. XXX. 1913. p. 116—121.)

Es werden die bei *Papaver thumasiosepalum* Fedde bemerkten Abnormitäten verzeichnet (Phyllodie der Sepalen mit Persistenz). Desgleichen diverse Blütenmißbildungen bei *Primula veris* L. und *Salix Caprea* (Staminodie der Pistille und Pistillodie der Stamina mit vielen Übergangsformen der Geschlechter). Matouschek (Wien).

Chalon, J., Anomalie chez l'*Araucaria excelsa* Carr. (Rev. de l'horticult. Belge. 1912. p. 154.)

Köpft man den Gipfel, so setzen nahe der Schnittstelle an der Hauptachse 2—3 neue Vertikaltriebe an, die als Stecklinge verwendet werden. Sind diese stark bewurzelt, so entwickeln sich die wirtelig gestellten Seitenäste 1. Ordnung und diese geben ihrerseits die schlangenförmigen Ästchen 2. Ordnung ab. Verf. sah nun einen Steckling, der von der Hauptachse ab gleich die schlangenförmigen Ästchen 2. Ordnung austrieb. Es scheint, als ob die Hauptachse direkt von den Zellen der Ästchen 2. Ordnung umgeben war, während die bildenden Elemente der Äste 1. Ordnung ganz abgedrängt wurden. Diese Anomalie kann durch Knospungen der Hauptachse (in ähnlicher Art wie die gewöhnliche *Araucaria excelsa*) vermehrt werden. Matouschek (Wien).

Sylvén, N., Några monströsa former af *Anemone pratense* L. [= Einige monströse Formen von *Anemone pratense* L.] (Svensk Botanik Tidskr. VI. 1912. p. 218—228).

12 monströse Formen fand Verf. auf Oeland: Vergrößerte zusammengewachsene Kelchblätter; Vermehrung der Kelchblätter, mitunter die Kelchblätter gelappt; traten die Kelchblätter in großer Zahl auf, (bis 30) so waren

Moquin-Tandon berichtet schon von einer Faszie von *Carlina vulgaris*, deren Achse 1 dm breit war. Zu Baubigny (Manche) beobachtete Verf. ein ähnliches Exemplar. Über die zusammengesetzte Platte sind normale und wenig reduzierte Blätter unregelmäßig zerstreut. 3 cm von der Spitze teilt sich der Stamm, ohne seine Breite zu vergrößern, in drei abgeplattete Zweige. Jeder Seitenzweig trägt zwei Köpfe: der eine sehr reduziert und normal aussehend, der andere aber deutlich fasziiert im Innern, doch viermal in sich selbst zurückgekrümmt. Letzterer stellt eine dornige Masse vor, in deren Mitte die Nebenblätter, vertrocknet, sich befinden. Der mittlere Zweig trägt einen einzigen Kopf, auch fasziiert und sechsmal in sich selbst zurückgekrümmt. Blüten und Samen wohl normal. Die mikroskopische Untersuchung ergibt im Stamme eine sehr deutliche bilaterale Symmetrie und eine bemerkenswerte Vermehrung der Anzahl der Holzfasern. Über die Ursachen solcher Mißbildungen zitiert Verf. auch die ältere Literatur. Gegenwärtig betrachtet man die Fasziation als die Folge einer Verwundung. Der ganze Stamm geht aus einer öfters wiederholten Teilung einer Gruppe von an seiner Spitze gelegenen Initialzellen hervor. Funktionieren die Zellen normal, so bilden sie einen radial-symmetrischen Stamm; sind aber einige abgestorbene oder zerstörte vorhanden, so werden die übrigen bloß nach zwei Richtungen sprossen und ein Organ von bilateraler Symmetrie ergeben. Diese Erklärung gab bereits **Moquin-Tandon** 1841 ab, **Sachs** und **Blaringhem** bestätigten sie. Im vorliegenden Falle mußten wohl die Tiere auf dem freien Felde das Sproßende der jungen Pflanze zertreten oder abgefressen haben.

Matouschek (Wien).

Küster, Ern., Über organoide Mißbildungen an Pflanzen.
(Aus d. Natur. Bd. 7. p. 673—685.)

Beispiele für die vom Verf. unterschiedenen organoiden und histioiden Gallen und Mißbildungen. **Matouschek** (Wien).

Gueguen, F., Soudure et fasciation chez quelques Basidiomycètes selon leur mode de groupement. (Bull. Soc. Mycol. France. T. 27. p. 499—504.)

Verf. berichtet über einen Fall von Superposition bei *Clitocybe nebularis* und über einige Fälle von Verwachsung bei *Armillaria mellea*. **Lakon** (Tharandt).

Zametzer, Über merkwürdige Verwachsungen an Waldbäumen. (Mitteil. d. bayer. botan. Gesellsch. z. Erforsch. d. heim. Flora III. 1913. p. 8—9, m. 1. Taf).

Zu Mauth (bayerischer Wald) stehen folgende Verwachsungen von *Fagus silvatica*: Je zwei getrennt stehende selbständige Individuen verwachsen zu einem völlig walzenförmigen Stamm, der sich von der Nachbarschaft in der Höhe nicht unterscheidet. Bei 3,6 m vom Boden vereinigen sie sich zu einem Stamme; die Stammdicke ist 35 bzw. 38 cm. Beim anderen Exemplare verwachsen die Stämme in 7 m Höhe; die Stammdicke der Stämme ist je 25 cm. — Erfolgt ein Zusammenwachsen eines Astes mit einem benachbarten Stamme, so entsteht gewöhnlich ein Reck; die Ursache sind meist Reibungswunden. Hierzu braucht es keinen starken Wind, bei gewöhnlichem Bergwinde hört man oft das laute Ächzen sich reibender Stämme. — Was die Ursache der eingangs erwähnten Verwachsungen betrifft, so sind

wohl durch den hohen Schnee die schlank aufgewachsenen Buchen im Gerstenholzalter zu Boden gedrückt worden; sie lagen lange Zeit aufeinander, an Stellen mit abgeschürfter Rinde trat eine Verwachsung auf, später erst die Aufrichtung.

Matouschek (Wien).

Arnaudoff, N., Quelques cas tératologiques chez les mousses. (Rev. bryolog. T. 39. 1912. p. 50—52.)

Es werden folgende Fälle beschrieben:

Doppelnerv bei *Desmatodon latifolius*;

Eine Rippenlamelle bei *Mnium punctatum* (sonst fehlend);

Eine Blattduplizität bei derselben Art;

Ein Zwillingsporogon bei *Ditrichum tortile*.

Matouschek (Wien).

Dixon, H. N., Abnormality of Moss Capsule. (Rev. bryolog. Vol. 38. 1912. p. 121—124.)

In Darjeeling fand Verf. bei dem Laubmoose *Acanthocladium laxitextum* 50 Proz. der Kapseln mit einem mehr oder minder langen Sporn oder andererseits fadenförmigem Anhang versehen. Es sind dies abgerissene Teile der Seta, bei der Drehung der Seta im entgegengesetzten Sinne (als sonst üblich) entstanden. Ref. hat zuerst solche Anhänge beschrieben und zwar bei *Pohlia nutans* und *Hypnum cupressiforme*, ohne sie aber näher, aus Materialmangel, untersuchen zu können (Zeitschr. d. mähr. Land. Mus., Brünn 1910. Bd. 10. p. 272.)

Matouschek (Wien).

Bornmüller, J., Mitteilungen aus der heimischen Flora. (Mitteil. d. Thüring. botan. Ver. N. F. XXX. 1913. p. 116—121.)

Es werden die bei *Papaver thamasiosepalum* Fedde bemerkten Abnormitäten verzeichnet (Phyllodie der Sepalen mit Persistenz). Desgleichen diverse Blütenmißbildungen bei *Primula veris* L. und *Salix Caprea* (Staminodie der Pistille und Pistillodie der Stamina mit vielen Übergangsformen der Geschlechter).

Matouschek (Wien).

Chalon, J., Anomalie chez l'*Araucaria excelsa* Carr. (Rev. de l'horticult. Belge. 1912. p. 154.)

Köpft man den Gipfel, so setzen nahe der Schnittstelle an der Hauptachse 2—3 neue Vertikaltriebe an, die als Stecklinge verwendet werden. Sind diese stark bewurzelt, so entwickeln sich die wirtelig gestellten Seitenäste 1. Ordnung und diese geben ihrerseits die schlangenförmigen Ästchen 2. Ordnung ab. Verf. sah nun einen Steckling, der von der Hauptachse ab gleich die schlangenförmigen Ästchen 2. Ordnung austrieb. Es scheint, als ob die Hauptachse direkt von den Zellen der Ästchen 2. Ordnung umgeben war, während die bildenden Elemente der Äste 1. Ordnung ganz abgedrängt wurden. Diese Anomalie kann durch Knospungen der Hauptachse (in ähnlicher Art wie die gewöhnliche *Araucaria excelsa*) vermehrt werden.

Matouschek (Wien).

Sylvén, N., Några monströsa former af *Anemone pratense* L. [= Einige monströse Formen von *Anemone pratense* L.] (Svensk Botanik Tidskr. VI. 1912. p. 218—228).

12 monströse Formen fand Verf. auf Oeland: Vergrößerte zusammengewachsene Kelchblätter; Vermehrung der Kelchblätter, mitunter die Kelchblätter gelappt; traten die Kelchblätter in großer Zahl auf, (bis 30) so waren

die äußeren in feine, grünviolette Zipfel zerschlitzt, die inneren aber den Kronblättern ähnlich, mitunter an der Spitze gelappt. Dabei waren die Involukralblätter durch Spaltung stark vermehrt. In anderen Fällen waren die Kelchblätter stark vermehrt und zerschlitzt, wobei die Staubblätter petaloid und auch zerschlitzt waren. Außer starker Vergrünung traten auch doppelte Quirle von Involukralblättern auf. Auch ungestielte Blüten fand man; sie besaßen manchmal schwach umgewandelte sterile Karpelle. Einmal sah man einen verdoppelten Quirl der Involukralblätter. Oder es waren alle Blumenblätter kronblattähnlich bei normal entwickelten Kelchblättern, wobei aber die Staubblätter vermehrt und schmal waren, die inneren gar gelappt, und andererseits die Fruchtblätter tief gelappt oder in lange feine Lappen zerschlitzt. — Schließlich wachsen im Gebiete auch Exemplare, deren Blätter insgesamt sterile Karpelle besitzen.

Matouschek (Wien).

Hergt, Abnorme Frucht von *Papaver Rhoeas*. (Mitteil. d. Thüring. bot. Ver. XXX. 1913. p. 129.)

Aus einer Blüte ging eine neunköpfige Frucht hervor. Um die normal ausgebildete Frucht stehen im Kreise angeordnet acht etwas kleinere und auch unter sich nicht ganz gleichgroße Kapseln, so daß das ganze Gebilde eine fast regelmäßige Rosette darstellt. Die zum Teile noch vorhandenen Staubblätter stehen zwischen den Kapseln und außen um sie herum.

Matouschek (Wien).

Kusano, S., On the Chloranth of *Prunus Mume*, caused by *Caeoma Makinoi*. (Journ. Coll. Agric. Imp. Univ. Tokyo. II. p. 287—326, m. 2 pl.)

Eine ausführliche Beschreibung der Vergrünung der Blüten und der Veränderungen, welche der Kelch, die Blütenkrone, das Gynaeceum und Androeceum verfährt. Es werden die verschiedenen beobachteten Stadien genau verzeichnet; sie hängen von der Wirkungsweise der Mycelium des Pilzes ab. Ist die Infektion von seiten des Pilzes eine frühzeitige, dann ist die Veränderung eine geringere, und gegenteilig. Die Beziehung wird durch eine Gleichung, eine Hyperbel, vom Autor ausgedrückt. Die beschriebenen Abnormitäten hält Verf. für wichtige atavistische Phänomene, durch welche Licht geworfen wird auf die Natur der Blütenorgane überhaupt (Velenovsky).

Matouschek (Wien).

Clark, J. J., Abnormal Flowers of *Amelanchier spicata*. (Ann. of Botan. Vol. 26. p. 948—949.)

Petalodie der Staubblätter begegnet man oft in der Familie der Rosaceen. Bei zwei Exemplaren von *Amelanchier spicata* kultiviert im Royal Botanical Garden, Kew, bemerkte Verf. das Umgekehrte: Die Ränder der Petalen waren eingerollt und es entstanden an ihnen Staubbeutel mit Pollen.

Matouschek (Wien).

Feucht, Nochmals die gefeldertrindige Buche. (Naturw. Zeitschr. f. Forst- u. Landwirtsch. Bd. 9. p. 508—510.)

Es handelt sich um einen anscheinend durch Stockausschlag, nicht durch Verwachsung zweier Individuen, entstandenen Buchenzwilling, von dessen beiden Stämmen der eine durchaus normal ausgebildet ist, während der andere in vollkommenster Weise die Merkmale der var. *quercoides* zeigt, wie sie bereits 1800 von Persoon abgebildet wurde. Der borkige Stamm belaubte sich früher als der normale. W. Herter (Tegel).

Borggreve, Über einen Maserkropf. (40. Jahresber. d. westfäl. Provinz.-Ver. f. Wissensch. u. Kunst. Münster 1912. p. 160).

Der bei Pleistermühle auf einer Rotbuche gefundene Kropf besitzt bei einer Höhe von 70 cm einen Umfang von 2,75 m. Er tritt einseitig aus dem Stamme hervor, diesen selbst mit einschließend. Der Umfang der Buche beträgt $\frac{1}{2}$ m unterhalb der Bildung 1,10 m, $\frac{1}{2}$ m oberhalb 90 cm.

M a t o u s c h e k (Wien).

Masoni, G., Saggio su l'azione del solfato di manganese in rapporto alla vegetazione. (Staz. sperim. agr. 44. p. 85—112.)

Mangansulfat wirkt ungünstig auf die Entwicklung des Kukuruz und der Lupine. Nur dem Schwefelsäureion ist eine verhältnismäßig doch günstige Wirkung zuzuschreiben. Desgleichen wirkt recht gut die gleichzeitige Darbietung von Eisen- und Mangansulfat oder auch von Natriumsulfat allein. Manganzusatz beeinträchtigte die Eisenabsorption und vice versa. Wurde Fe und Mn in reichlicher Menge aufgenommen, so kam es zu keiner Beschleunigung des Wachstums, eine solche zeigte sich aber dann beim Mais, wenn Fe allein in größerer Menge von den Pflanzen aufgenommen wurde.

M a t o u s c h e k (Wien).

Buscalioni, Luigi, e Muscatello, Guiseppe, Contribuzione allo studio delle lesioni fogliari. (Malpighia. Vol. 24. p. 27—88, 97—152, c. tav. 1—3.)

Die Verff. untersuchten bei einer großen Anzahl von Pflanzen Mono- und Dicotyledonen, das Verhalten des Blattgewebes nach Verletzungen. Dieselben waren durch mechanische Schädigung (Reibung) oder durch Ätzung mit Silbernitrat hervorgerufen worden. Die Vernarbungserscheinungen wurden sowohl auf der Blattober- als auch auf der Blattunterseite studiert. Bei Blättern, die im Wasser, in Knopfscher Nährlösung oder im Dunkeln gehalten wurden, heilten die Wunden nicht. Die Vernarbung findet also nur bei normaler Beleuchtung und Trockenheit statt.

Auf den Tafeln sind 69 photographische Aufnahmen von Blattsschnitten reproduziert, welche die histologischen Vorgänge im Blattgewebe nach Verletzungen darstellen.

Die Arbeit schließt mit einem ausführlichen Literaturverzeichnis.

W. Herter (Tegel).

Němec, B., Weitere Untersuchungen über die Regeneration. (Bull. intern. Acad. Sc. Bohême, Prag 1911. 33 pp.)

Die Versuche mit *Streptocarpus Wendlandii* zeigen folgendes: Dasselbe Organ produziert, je nach der Zeit, wo es zur Regeneration gezwungen wird, qualitativ verschiedene Regenerate, wie Goebel schon früher konstatiert hat. Schneidet man blühreife Blattspreiten durch, so wachsen aus dem basalen Teile rein reproduktive gleich zum Blühen übergehende Sprossen, von dem mittleren Teil Übergangssprosse, d. i. Laubspreite und Blütenstand entwickelnde, und vom apikalen Teile reine vegetative Sprosse. Vor der Blühreife entwickeln sich nur rein vegetative Sprosse. Für jüngere Entwicklungsstadien der Spreite trifft dies aber nicht zu, so daß die Meinung Goebels, die Beschaffenheit der Blattregenerate sei von der inneren Beschaffenheit des regenerierenden Blattes abhängig, bestätigt

wird. Diverse Hemmungsfaktoren bringen Anomalien im Wachstume hervor.
Matouschek (Wien).

Martelli, G., *Myopites limbardae* Schin. (Boll. Labor. Zool. gen. ed agraria R. Scuola Sup. Agric. Portici. Vol. 4. p. 303—306.)

Das Insekt erzeugt in der Infloreszens von *Inula viscosa* eine Galle, die genau beschrieben wird.
Matouschek (Wien).

Kieffer, Neue Gallmücken-Gattungen. Kl. 8°. 2 pp. Bitsch (Selbstverlag) 1912.

Die Gattung *Bremia* Rond. und die Gattung *Aphidoletes* Kieff. werden in folgende neue Genera geteilt: *Monobremia*, *Phaenobremia*, *Holobremia*, *Tribremia*, *Plesiobremia*, *Homobremia*, *Lepidobremia*, *Cryptobremia*. — Von der Gattung *Clinodiplosis* werden 10 besondere Genera abgezweigt. — Von anderen Gattungen trennt Verf. 18 neue Gattungen ab. — Für jede seiner neuen Genera stellt Verf. einen Typus auf, wobei er bei einzelnen Genera, die überhaupt ganz neue Typen vorstellen, die Diagnosen entwirft. Es sind dies: *Cryptobremia*, *Chelobremia*, *Profeltiella*, *Therodiplosis*.
Matouschek (Wien).

Karny, H., Gallen bewohnende Thysanopteren aus Java. (Marcellia. XI. 1912. p. 115—128, 129—169.)

Es werden aus dem von J. u. W. Docters van Leeuwen-Reijnvaan in Java gesammelten Materiale folgende neue Genera und Arten genau beschrieben:

Euthrips flavicinctus (sehr charakteristische Färbung; in von *Cryptothrips tenuicornis* verursachten Gallen auf *Homalomena* lebend); *Aneurothrips punctipennis* n. g. n. sp. (Vorderflügel fein und kurz behaart, borsten- und aderlos; vielleicht Raumparasit in *Acaroecidiengallen* auf *Cordia suaveolens*); *Neoheegeria mendax* (längerer Kopf, schlanker Körperbau als *N. dalmatica* besitzend; in Blattgallen auf *Mallotus repandus* und *Schoutenia ovata*); *Dolerothrips laticauda* (unbehaarte Vordertarsen, auffallend kurzer Tubus; in Blattgallen auf *Schoutenia ovata*); *D. crassicornis* (von allen anderen Arten durch den ganz kurzen, gekrümmten Zahn des Vordertarsus verschieden; erzeugt röhrenförmige Rollgallen auf *Loranthus pentandrus*); *Gynaikothrips litoralis* (dem *G. chavicae* nahe verwandt, Gallen auf *Fragraea litoralis* erzeugend); *G. crassipes* (von allen Arten der Gattung unterschieden durch den schmälere längeren Mundkegel und die stärker verdickten Schenkel aller Beine; Blattgallen auf *Piper nigrum* erzeugend); *Cryptothrips tenuicornis* (auffallend schlanke Fühler; die erzeugten Gallen auf den Blättern von *Homalomena* sp. werden beschrieben und abgebildet); *Crypt. fuscipennis* (Blattgallen auf *Spatholobus* bildend); *C. intorquens* (Involutionen und Torsionen der Blätter von *Smilax* bildend); *Leptothrips constrictus* (in Blattgallen von *Ficus*-Arten gefunden); *Liothrips longirostris* (in Blattgallen von *Melastoma polyanthum*; ausgezeichnet durch den Geschlechtsdimorphismus der Vorderbeine; in der Galle die ganze Entwicklung durchmachend); *L. brevitubus* (noch nicht beschriebene Blattgallen auf *Mallotus repandus*, Java, erzeugend); *Leeuwenia* n. g. mit *L. gladiatrix* (durch die enorme Länge des Tubus im Vergleich zu den übrigen Hinterleibssegmenten von allen Thysanopteren abweichend, vielleicht der Typus einer neuen Familie; die ganze bekannte Entwicklung wird in den Blattgallen von *Eugenia polyantha* durchlaufen).

Zum Schlusse gibt Verf. eine Übersicht der bisher aus Java bekannt gewordenen Thysanopteroecidien, systematisch nach den Wirtspflanzen geordnet, an. Bei manchen Gallen konnte allerdings der Erzeuger

noch nicht ermittelt werden. — Die einzigen Gallenbildner aus der Gattung *Thrips*, nämlich *Thrips sacchari* Kobus und *Thr. serratus* Kob. werden sehr genau beschrieben. — *Haplothrips aculeatus* (Fabr.) scheint weit verbreitet zu sein (Europa, Südafrika, für Asien neu). — Von *Gynaikothrips* Zimm. wird eine genaue Diagnose entworfen. Sehr wichtig sind die Bestimmungsschlüssel zu den einzelnen Gattungen, vor allem zu *Gynaikothrips* und *Cryptothrips*.

Androthrips melastomae (Zimmerm.) Karny wird nochmals genauer beschrieben und die Verbreitung des seltenen Gallenerregers angegeben.
Matouschek (Wien).

Karny, H., Revision der von Serville aufgestellten *Thysanopterengenera*. (Zoolog. Annalen. Zeitschr. f. Gesch. d. Zoolog. Bd. III. 1912. p. 322—344.)

Eine rein systematische Arbeit, die sich besonders mit den von Serville in seiner „Histoire naturelle des Insectes“ (Hemiptères 1834) aufgestellten *Thysanopterengenera* beschäftigt. Da so manche der *Thysanopteren*-arten Gallen erzeugen, so dürfte die Arbeit, namentlich mit Rücksicht auf die ausführlich ausgearbeiteten Bestimmungsschlüssel, allgemeines Interesse erwecken.
Matouschek (Wien).

Karny, H., Zwei neue *Physapoden*-Genera. (Zoolog. Anzeig. XL. 1912. p. 297—301.)

Van Leeuwen sammelte in Java auch blütenbewohnende *Thysanopteren*. Verf. wies in dem Materiale zwei neue Genera nach:

1. *Rhynchothrips* mit der Art *Rh. tenuirostris*, in den ♂ Blüten von *Macaranga tanarius* (von *Mycterothrips* verschieden durch die stark verdickten Vorderschenkel, die bewehrten Vordertibien und -tarsen, die Zahl der Fühlerglieder, die spärlicher beborsteten Flügel, aber auch einen sehr schmalen langen Rüssel besitzend).

2. *Dolichothrips* mit *D. longicollis* und der n. sp. *brevicornis* (ebenda gefunden, mit Merkmalen, die teils an *Liothrips*, *Haplothrips*, teils an *Trybomia* erinnern).

Ob diese Tiere Gallen bilden, ist noch nicht erwiesen.

Matouschek (Wien).

Karny, H., Über einige afrikanische *Thysanopteren*. (Fauna exotica, Beilage z. Entomolog. Zeitschr. Jahrg. 2. 1912. No. 5. p. 19—20, No. 6. p. 22—24, No. 7. p. 25—26.)

Bearbeitung des *Physapoden*materials des Berliner Museums. Ich ordne die Resultate hier übersichtlich in einer Tabelle an:

Name des Tieres	Fundort mit Nährpflanze	Galle
<i>Gynaikothrips ficorum</i> (March.) Karny	Teneriffa; auf <i>Ficus</i> sp.	Blattfaltungen nach oben, da der Erreger nur auf der Blattoberseite lebt, doch in diverser Ausbildung.
<i>Leptothrips</i> (?) <i>reticulatus</i> n. sp.	Funchal-Madeira, auf <i>Ficus carnosa</i> !	Galle unbekannt.
<i>Machatothrips braueri</i> n. sp.	Kamerun; auf unbekannter Nährpflanze	Galle daher bis jetzt unbekannt.

Die Arten sind genau beschrieben; die Tabelle gibt alle bisher aus Afrika bekannt gewordenen Thysanopteren (mit der Verbreitung) an.

Matouschek (Wien).

Wüst, Die Gallen und ihre Erzeuger. Über Zuchtergebnisse. (Entomolog. Zeitschr. XXVI. 1912. p. 19—20.)

Winke zur Aufzucht der Erzeuger von Gallen, wenn die Zucht zu Hause nicht gelingen wollte: Das Umhüllen der Gallen mit Gaze usw. draußen im Freien; Wurzelgallen sind in der Erde zu belassen und der Topf mit Messingdrahtgaze zu verschließen; Umhüllung ganzer Pflanzenteile mit Gaze, um ja die Blattflöhe abzuhalten. Um speziell *Lauseamia aenea* Mg. aus den Gallen von *Viola* zu erziehen, bedeckte Verf. mittelst Pergamentstoff den Boden, durchzog die Pflanzenteile und verkittete und stürzte eine Glasglocke darüber, um die Erzeuger zu fangen. Matouschek (Wien).

Wanach, Über einige Potsdamer Eichengallen und Gallwespen. (Berliner entomol. Zeitschr. Bd. 57. 1912. p. 1.)

Verf. hat mehr Gallen gefunden als in der Literatur aus dem Gebiete angeführt werden. *Cynips lignicola* Htg. war häufig, *C. Kollari* Htg. sehr häufig, in den Jahren 1909 und 1910, *C. conglomerata* Gir. und *C. corruptrix* Schl. waren seltener. Einen Unterschied zwischen *C. Kollari* und *lignicola* fand Verf.: das erste Abdominalsegment ist bei ersterer Art sehr viel stärker an den Seiten, mit feinen, anliegenden Härchen bekleidet als bei *C. lignicola*. Die Fühler der beiden Gallenerzeuger variieren stark. Matouschek (Wien).

Wüst, Studien an *Cecidomyia rosaria* Lw. und *albipennis* Wz. (Entomol. Zeitschr. XXVI. 1912. p. 247—248.)

Vor 30 Jahren, als in der Pfalz die Flechtindustrie noch im Aufschwung begriffen war, bemerkte Verf. *Cecidomyien* als Gallenerzeuger nur auf *Salix alba*, *fragilis*, *cinerea*; ihre Siedlungen waren zumeist auf höheren Bäumen. Mit dem Anwachsen der Kulturen verbreiteten sich auch die Gallenerzeuger und verursachten namentlich in der Südpfalz großen Schaden; sie gingen auf *Salix caprea*, *cinerea*, *aquatica* und *nigricans* über, später erst auf *S. amygdalina*, *viminalis*, *purpurea*. Die Zucht der Insekten ergab als häufigsten Schädling *Cecidomyia rosaria* Lw.; er paßte sich selbst an *Salix pulchra* und *S. purpurea* an, die doch einen starken Bitterstoff in der Rinde haben. *Cecidomyia albipennis* Wz. aber liebt Sorten mit wolligen Knospen und Blättern (z. B. *Salix acuminata*, *cinerea*) und kommt im Freien wie auch in den Kulturen überhaupt seltener vor. Auf den einzelnen Weidensorten sind die Gallen verschieden ausgebildet:

I. Einander ähnliche Gallen findet man auf *Salix alba*, *pentandra*, *alba*, *fragilis*, *rubra*, *vitellina*, *amygdalina*.

II. *S. viminalis* hat formlose Gallen.

III. Auf *Salix purpurea* entstehen nur aufrechte Blätterschöpfe mit schwach erkennbarer Rosettenform. Negerweiden haben behaarte Schöpfe, *Salix rosmarinifolia* (Hort.) solche, die einer Coniferenknospengalle ähnlich aussehen. Blattrosetten bis 8 cm Diameter fanden sich auf einer aus Japan eingeführten Blutweidenart. Auf *Salix herbacea* fand seinerzeit Verf. auch ähnliche Gallen.

Bekämpfung: Nach langjähriger Erfahrung nützt nur das Absammeln der Gallen (nach dem Laubfalle) auf den Ruten und Verbrennen derselben. Je näher die Kulturen den Waldungen zu liegen oder je mehr baumartige Weiden in der Umgebung auftreten, desto mehr und schneller werden die Weidenkulturen befallen.

M a t o u s c h e k (Wien).

Bayer, E., Gallenbildende Chermiden der Fichte und der Lärche. (Živa. 1912. p. 130 ff.) [In tschechischer Sprache.]

Eine ausführliche Besprechung der Biologie und Entwicklungsgeschichte von *Chermes viridis* und *Ch. abietis*. Diagramme erläutern deutlich die komplizierten entwicklungsgeschichtlichen Verhältnisse. Das Gleiche gilt bezüglich des Genus *Cnaphalodes* Macq.

M a t o u s c h e k (Wien).

Diels, L., Der Formbildungsprozeß bei der Blüten-
cecidie von *Lonicera*, Untergatt. *Periclymenum*.
(Flora. N. F. Bd. V. 1913. p. 184—223. 2 Taf. u. 26 Fig. i. Text.)

Nach Darlegung der phänologischen Momente bei den vier um Marburg lebenden Arten von *Lonicera* wird die verschiedene Disposition dieser Arten zur Vergallung klar. Bei allen Arten sind die meisten archigenen Blütenknospen über ihre stärker deformierbare Periode hinaus (von Mitte Mai, wo *Siphocoryne xylostei* Schrk. [Laus] als Infizient wirksam wird). Folgendes ließ sich eruieren:

I. *L. Caprifolium* und *L. italica*: keine natürlichen Deformationen vorkommend. Laterale Infloreszenzen selten bildend, daher nur ausnahmsweise Anfänge von deformierten Blüten.

II. *L. sempervirens* zeigt zu dieser Zeit ausnahmsweise auch spontan noch laterale Blüten, doch können solche leicht künstlich durch Entfernung der Terminalknospen entstehen. Experimentell erhält man unschwer tief deformierte Blüten.

III. *L. Perichymentum* zeigt auch bereits später archigene Infloreszenzen angegriffen. Daher viele Deformationen. — Eine direkte Infektion von ausgebildeten Knospen führt zu keinen wesentlichen Umbildungen. Derartige Spätinfektionen sind beim künstlichen Versuche möglich, wobei die Sporangien normal sind. Hierauf bespricht Verf. eingehend die progressive Deformation der Blütenanlagen (Kelch, Krone, Gynaeceum, Androeceum, staminoide Griffel, totale Petalodie und Phyllodie). Mit dem normalen Ablauf verglichen besteht die cecidogene progressive Deformation in einem Entwicklungsprozesse, der die Geschlechtsblätter schrittweise desorganisiert. Die formativen Erfolge sind von dem Zustande der Blüte bei Eintritt der Infektion abhängig. Dies läßt sich bei künstlicher Infektion deutlich verfolgen.

Die auffällige Hypertrophie des Funiculus teilt die *Lonicera*-Cecidie mit der von *Aphis* (?) *anthrisci* auf *Torilis Anthriscus* hervorgerufenen. Die Empfindlichkeit des weiblichen Organs gegen den *Siphocoryne*-Parasitismus ist der eigentümlichste Zug der *Lonicera*-Cecidie.

Im Abschnitte „Regressive Deformation der Blütenanlagen“ zeigt der Verf., daß in der Terminalachse die Erkrankung rasch über Stylolyse zur Petalodie führt, in den Lateralachsen tritt wieder Genesung und Normalform ein.

Die parasitische Tätigkeit der Laus geht in den Frühlingsmonaten von der Oberseite der Blätter aus. Sie entnimmt ihre Nahrung direkt dem Leitbündel, daher beschränkt sich die Wirkungssphäre des Parasiten nicht auf den engsten Ort der Infektion. Der Mehrzahl nach gehören die aphidogenen Deformationen an *Lonicera* zu den auf Fernwirkung beruhenden Mißbildungen. Es kommt sicher zu einem Verluste an Assimilaten, mittelbar zu einer Schwächung der C-Assimilation. Es sind Bedingungen vorhanden, welche noch die vegetativen Bildungsvorgänge befördern, die generativen hemmen.

Sehr lesenswert ist der letzte Abschnitt „Normale Organbildung und Deformation“. Von den einzelnen Deformationsphasen bei dem oben genannten Subgenus der Gattung *Lonicera* weisen einige in ihrer Verwandtschaft als normale und definitive Gestaltungen auf. Es ergeben sich weitausblickende Perspektiven, bezüglich welcher auf die Arbeit hingewiesen werden muß.

Matouschek (Wien).

Felt, E. P., *Diarthronomyia Californica* n. sp. [Diptera, Itonidæ.] (Pomona College Journ. of Entomol. IV. 1912. p. 752.)

Durch eine kleinere Zahl von Fühlersegmenten ist die genannte neue Art, gezogen aus den Gallen von *Artemisia californica* in Claremont in Kalifornien, von *Diarthronomyia artemisiae* Felt verschieden.

Matouschek (Wien).

Felt, E. P., The Gall Midge Fauna of Western North America. (Pomona College Journ. of Entomol. IV. 1912. p. 753—757.)

Behandelt werden:

Lestremiinae, *Epidosariae*, *Dasyneuriariae*, *Oligotrophariariae*, *Asphondyliariae* und *Itonidimariariae*. Die erzeugten Gallen werden bei jeder Art angeführt.

Matouschek (Wien).

Kieffer, J. J., Les Cécidomyies du Tamarix. (Marcellia. XI. p. 169—172.)

Aus Gallen von Tamarix (Algier, Sizilien, Portugal, Südfrankreich und Ägypten) züchtete Verf. folgende Arten von Cecidomyiden:

Amblardiella (n. g.) *tamaricum* Kieff., *Psectrosema tamaricis* Stef., *P. provincialis* Kieff., *Cecidomyia* (?) *debskii* n. sp., *C. tamaricis* Koll., *Perrisia* (?) *tamaricina* Kieff.

Verf. beschreibt die Entwicklung dieser Gallenerzeuger, soweit sich das Material hierzu eignete.

Matouschek (Wien).

Kieffer, J. J., Nouveau démembrément du genre *Clinodiplosis*. (Marcellia. XI. p. 6—21.)

Die genannte Gallmückengattung zerlegt Verf. in folgende Genera, die er genau beschreibt:

Löwodiplosis, *Cyrtodiplosis*, *Anthodiplosis*, *Blastodiplosis*, *Strobilophila*, *Plesioidiplosis*, *Mycetodiplosis*, *Hygrodiplosis*, *Anabremia*, *Hadrobremia*, *Geodiplosis*.

Die Typen, mit den betreffenden Gallen, werden bei jeder Gattung angegeben.

Matouschek (Wien).

Schiele, Frd., Material zu einer Thysanopteren- (Blasenfuß-) und Collembolen-Fauna Galiziens. (Entomolog. Zeitschr. XXV. 1912. No. 42—47; XXVI. 1912. No. 1—5. M. Fig.)

Uns interessieren hier nur die Thysanopteren-Tubulifera. Neue Genera sind: *Chaetothrips* (mit *Ch. Uzeli* n. sp. auf *Juniperus communis*), *Prinothrips* (mit *Pr. Niezabitowski*, ebenda) Neu ist auch *Pachythrips phaeoptera* und *Thrips Kroli* (letzterer auf *Melampyrum nemorosum* und *Calluna vulgaris*).
Matouschek (Wien).

Schmidt, Hugo, Neue Gallenstandorte und Gallen aus der Gegend von Steinau a. Oder. (Deutsch. botan. Monatschrift. Jahrg. 22. p. 61—64, 75—79.)

66 verschiedene Gallen werden aus Pr.-Schlesien notiert. Von 4 schon bekannten Gallen werden neue Wirtspflanzen angegeben, und zwar:

An *Salix viminalis*: *Rhabdophaga heterobia* H. L., kleine offene Blätterschöpfe; an *Salix viminalis* × *amygdalina*: das gleiche Insekt, auch Spätblütenkätzchen verdickend; an *Medicago varia*: *Contarinia medicaginis* Kff., verdickte geschlossene Blütenknospen von bleicher Farbe; an *Chenopodium glaucum*: *Aphis atriplicis* L., der Länge nach eingerollte Blätter. 16 Gallen sind neu, darunter solche Pflanzen, die nach Houards „Le Zoocécidies des Plantes d'Europe etc.“ überhaupt nicht als gallenführend angegeben werden. Es sind dies: *Ranunculus sceleratus*, *Potentilla anserina*, *Impatiens parviflora*, *Eryngium planum*. 6 solcher Gallen sind abgebildet.

Matouschek (Wien).

Hedicke, H., Beiträge zur Kenntnis der Cynipiden (Hym.). T. III. (Entomolog. Rundsch. Jahrg. 30. 1913. p. 31—32.)

Zwischen *Ibalia leucospoides* Hoch. und *I. arcuata* fand Verf. viele Übergänge. Zu erstgenannter Art zählt Verf. auch *Ibalia schirmeri* Kieff. 1897 und wohl auch *I. drewseni* Borr. 1891.

Matouschek (Wien).

Schwangart, F., Gallmilben an Reben, Obstbäumen und Beerensträuchern. (Pfälz. Wein- u. Obstbauzeitg. 1912. p. 59—61.)

Nach Wirtspflanzen geordnet, wird eine Übersicht der häufigsten schädlichen Gallmilben entworfen und die Krankheiten erläutert. Berücksichtigung finden:

Eriophyes vitis Ld., *ribis* Nal., *pyri* Pag., *similis* Nal., *malinus* Nal., *phloeocoptes* Nal., ferner *Phyllocoptes vitis* Nal., *schlechtendali* Nal., *unguiculatus* Nal. und *fockeni* Nal.

Matouschek (Wien).

Smith, C. O., Some succesful Inoculations with the Peach Crown Gall Organism and certain Observations upon retarded Gall Formation. (Phytopath. Vol. 3. 1913. p. 59.)

Mit *Bacterium tumefaciens* konnten folgende Pflanzen erfolgreich infiziert werden:

Schinus molle, *Diospyros kaki*, *Juglans californica*, *J. californica* var. *hindsii*, *J. cinerea*, *J. nigra*, *J. regia*, *J. sieboldiana*, *Hicoria pecan*, *Eucalyptus tereticornis*, *Cydonia*, *Prunus amygdalus*, *P. armeniaca*, *P. avium*, *P. allegheniensis*, *P. davidiana*, *P. domestica*, *P. cerasifera*, *P. mahaleb*, *P. orthosepala*, *P. persica*, *P. platycarpa*, *P. simonii*, *P. triflora*, *Pirus betulifolia*, *P. communis*, *P. pashia*, *Laurocerasus lyonii*, *Citrus aurantium*, *C. vulgaris*, *C. li-*

monum, *C. limetta*, *Sterculia diversifolia*, *S. acerifolia*, *Ficus carica*. Auf *Cidonia* und *Ficus* entwickelten sich die Gallen auffallend langsam.

Riehm (Berlin-Dahlem).

Baudyš, E., Pro Cechy nové hálky. [Für Böhmen neue Gallen]. (Sborník klubu přírodovědeckého v Praze. St. 8. 1912. p. 1—16.) [Tschech. m. deutsch. Resumé.]

1912 sammelte Verf. im Gebiete 109 für letzteres neue Gallen, von denen 57 in Houdards Werken nicht verzeichnet sind, wohl aber später publiziert wurden. Als ganz neu wurden folgende Gallen beschrieben:

Ein *Pleurocecidium* auf dem Stengel des *Polygonum Hydroppiper*, erzeugt von der Larve des *Ceuthorrhynchus contractus* Gll.; tonnenförmige Auftreibung über dem Knoten.

2. Ein *Pleurocecidium* des Blattes auf *Barbarea vulgaris*, erzeugt durch *Aphis* sp.; Aufrollung nach oben.

3. Ein *Pleurocecidium* auf den Blättern von *Erysimum crepidifolium*, Erzeuger *Aphis erysimi* Klt. (?); die Blätter hülsenartig nach oben gewendet, aufgetrieben, violett gefärbt.

4. *Acrocecidium* des Stengels, geformt durch Aphideen, auf *Leonurus cardiaca*.

5. *Acrocecidium* des Köpfchens von *Matricaria inodora*, durch *Trypeta stellata* erzeugt. Blütenboden recht groß mit Längsscheidewand.

6. Ähnliche Galle, wie die vorige, verursacht auch auf *Matricaria inodora* durch *Ceuthorrhynchus* (*Chrysanthemi* Gyll.). Blütenboden mißgebildet, verfärbt, ellipsoidisch. Im Innern ist die Galle schwarz, opalisierend und ganz hohl.

7. Aphideen bilden auf *Cirsium canum* ein *Pleurocecidium* des Blattes. Randrollung nach oben.

Matouschek (Wien).

Familler, Jg., Moosgallen aus Bayern. (Hedwigia. LIII. 1913. p. 156—160, Fig.)

Eine größere Zahl von noch nicht publizierten Gallen auf Laub- und Lebermoosen werden beschrieben. Besonders sind folgende interessant:

Festgeschlossene Gallen bei der häufigen Art *Hedwigia albicans*, Antheridien zu flächenartigen Gebilden umgewandelt. — Mißbildung der ♀ Blüte bei dem Wassermoose *Cinclidotus aquaticus*. — Galle auf der Spitze von *Polytrichum formosum* mit Anguillulen zwischen den Blättern. — Bei *Racomitrium microcarpum* Gallen in Gestalt kleinster Schalottenzwiebeln. — Lebermoose: Bei *Lophozia alpestris* mißgebildete ♀ Blüten in Form einer geschlossenen Tulpenblüte, innen kompliziert gebildet; bei *L. Floerkei* Gallen der Vegetationsknospen. Bei *L. ventricosa* kurz gedrungene Spitzengallen. In der Nachbarschaft von Gallenherden wurden auf Nematodeneinflüsse zurückgehende Störungen bei *L. quinquedentata* (Einschiebungen von kürzeren Blattrainen zwischen Normalblätter) und bei *Leptoscyphus anomalus* (abnormale Blätter) bemerkt. Matouschek (Wien).

Ohl, J. A., Verzeichnis der von N. P. Trussow im Gouvernement Tula gefundenen Gallen. (Journ. f. Pflanzenkrankh. Bd. 6. 1912. p. 123.) [Russisch.]

Folgende Gallen wurden gefunden:

Eriophyes artemisiae auf *Artemisia vulgaris*, *E. betulae* auf Birke, *E. fraxini* auf *Fraxinus*, *E. laevis* auf Erle, *E. macrorrhynchus* auf Ahorn, *E. padi* auf Faulbaum, *E. piri* auf Birnbaum, *E. piri* var. *variolata* auf Eberesche, *E. psilonotus*, *E. rudis* var. *longisetosa*

auf Birke, *E. silvicola* auf Kastanie, *E. tetanotrix* auf Weide, *E. tiliae* auf Linde, *E. tiliae* var. *liosoma* auf Linde, *E. xylostei* auf Geißblatt, *Phyllocoptes gymnaspi* auf Ahorn, *P. populi* auf Pappel, *P. setiger* auf Erdbeere, *Myzus ribis* auf Johannisbeere, *Schizoneura ulmi* auf Ulme, *Tetraneura ulmi ebenda*, *Contarinia linariae* auf *Linaria vulgaris*, *Perrisia fraxini* auf Esche, *P. ulmariae* auf *Ulmaria filipendula*, *Rhopalomyia tanaceticola* auf *Tanacetum vulgare*, *R. tubifex* auf *Artemisia campestris*, *Andricus fecundator* auf Eiche, *Aulax glechomae* auf *Glechoma hederacea*, *Biorrhiza pallida* auf Eiche, *Neuroterus lenticularis* auf Eiche, *Pontania proxima* auf Weide und *Rhodites rosae* auf Rose.

Riehm (Berlin-Dahlem).

Schmidt, Hugo, Weitere Nachrichten über die Verbreitung gallenbildender Hymenopteren in der niederschlesischen Ebene. (Zeitschr. f. wissensch. Insektenbiol. 1913. p. 152—156.)

1. Neue Wirtspflanzen aus den Familien der Rosaceen, *Centaurea* und *Hieracium* werden angeführt; die betreffenden Gallenerzeuger gehören zu den Cynipiden.

2. Gallenerzeuger aus der Familie der Chalcididen: *Isosoma*-Gallen treten im Gebiete nur auf Gräsern auf. Man muß, um solche Gallen auf den Halmen zu finden, Halm für Halm zwischen den Fingern durchziehen, um die Anschwellungen wahrzunehmen. Die einzelnen gefundenen Gallen werden genau beschrieben.

3. Gallenerzeuger aus der Familie der Tenthrediniden: Fürs Gebiet kommen nur die Gattungen *Blennocampa*, *Pontania*, *Cryptocampus* und *Trichiocampus* in Betracht. Die von ihnen erzeugten Gallen finden sich hier nur auf Pappeln, Weiden und Rosen vor. Die neuen Gallen sind auch hier genau verzeichnet.

Im ganzen sind 96 gallenerzeugende Hymenopteren notiert. Fast ein Drittel der gallenbildenden Hymenopteren-Arten, welche Howard in seinem großen Werke anführt, finden sich in der niederschlesischen Ebene, ein Zeichen, daß die genauere Erforschung noch mehr derselben zeitigen wird.

Matouschek (Wien).

Baudyš, E., Třinové hálky Apiony vyvolané. [Drei neue durch Apion erzeugte Gallen.] (Acta Societatis Entomolog. Bohemiae. IX. No. 4. Prag 1912. p. 4, m. Fig.) [Tschechisch, mit deutschem Resumé.]

Apion minimum Herbst bildet ein Pleurocecidium des Blattes von *Salix aurita* L. Der Blattstiel ist am Grunde verbreitet mit einem kleinen, konischen Auswuchse, der ins Innere des Blattstieles führt. In der Blattstielbasis sitzt die Kammer. Die Galle ist kleiner als alle anderen bei *Salix* bekannten und so gefärbt wie das umgebende Gewebe.

Apion amethystinum Mill. verursacht ein Pleurocecidium der Sproßachse von *Trifolium pratense* L., das einseitig angeschwollen ist. Die Kammer liegt gewöhnlich im Wurzelhalse.

Apion seniculum Kirby verursacht, wie *Apion Gyllenhalii* Kbg. ein Pleurocecidium der Sproßachse von *Vicia cracca* L. Liegt die Galle an der Spitze der Achse, so sind die Blätter meist gehäuft.

Die neuen Gallen stammen aus Böhmen. Matouschek (Wien).

Cholodkovsky, N., Sur quelques insectes exotiques. (Rev. Russe d'Entomol. T. 12. 1912. p. 491—496, 10 fig.)

Pemphigus mordwilkoi n. sp. und *Pemphigus naitalensis* n. sp. erzeugen Zweiggallen auf *Populus ciliata*, *P. imaicus* n. sp. solche entlang des Hauptnerven an Blättern derselben Nährpflanzen in Gestalt einer länglichen gerade gezogenen kleinen Wurst. Das Material stammt aus Himalaya. Die Tiere werden beschrieben, auch die Gallen abgebildet. Matouschek (Wien).

Wagner, Jul., Beiträge zur Kenntnis der Gattung *Amphipsylla* Wagn. [Aphaniptera]. (Rev. Russe d'Entomol. T. 12, No. 3. St. Pétersbourg 1912. p. 574—580, 5 fig.)

Kritische Studien über *Amphipsylla sibirica* Wagn. (auf *Putorius sibirica* in Turkestan), *A. rossica* n. sp. (aus dem Gouvernement Charkow, von *Putorius vulgaris*), *A. shelkovnikovi* Wagn. (aus Kaukasus), *A. kuznetzovi* n. sp. (auf *Microtus middendorfi* im Ural). Außerdem ist *A. daea* Dampf. eine sichere zu obengenannter Gattung gehörende Art.

Matouschek (Wien).

Cobau, R., Altri cecidii della Valle del Brenta. (Atti Soc. ital. Sc. Nat. Vol. 51. 1912. p. 31—67.)

87 Zoocecidien und 4 Myocecidien werden aufgezählt. Neue Gallen wurden bemerkt auf:

Amarantus hypochondriacus, erzeugt von *Aphis Rumicis*?
Carduus defloratus var. *glaucus*, erzeugt durch eine Aphide,
Coronilla coronata, erzeugt von einer Cecidomyide,
Cynodon Dactylon, erzeugt von einem Schmetterling,
Erigeron annuus, erzeugt von einer *Aphis Myosotidis*?
Galium cruciata, erzeugt von einer *Perrisia gallicola*?
Hieracium porrifolium, erzeugt von einer *Aulacidea Hieracii*,
Phyteuma Scheuchzeri, erzeugt von einer Coccide,
Polygonum Persicaria, erzeugt von Nematoden?,
Rhamnus saxatilis, erzeugt von *Trichopsylla Walkeri*,
Salix hastata, erzeugt von *Pontania proxima*,
Salix incana, erzeugt von *Eriophyes salicis*,
Solidago virgaurea, erzeugt von einer Aphide.

Matouschek (Wien).

Houard, Les galles des Crucifères de la Tunisie. (Ass. fr. Avanc. Sc. Congrès de Dijon. 1911. p. 495—499; 1913 erschienen.)

Cystopus candidus Lév. deformierte am Stamme und an der Influenz *Moricandia cinerea* Coss. — *Baris parsina* Boh. var. (Rüsselkäfer) bringt Gallen auf Zweigen von *Moricandia arvensis* DC. var. *suffruticosa* Coss. hervor. Auf dieser Pflanzenart sowie auch auf *Cakile maritima* Scop. var. *aegyptiaca* Coss., *Hirschfeldia geniculata* B. et Trab., *Diplotaxis erucoides* DC., *D. pendula* DC., *Eruca sativa* Lk., *Rapistrum Linnaeanum* B. et Rtr. wurden Dipterocecidien gefunden.

Matouschek (Wien).

Miehe, Hugo, Javanische Studien V. Die Bakterienknoten an den Blatträndern der *Ardisia crispa* A. DC. (Abh. d. math.-physisch. Kl. d. kgl. sächs. Gesellsch. d. Wiss. Bd. 32. p. 399—431.)

Die Ansicht Höhnels, es handle sich bei den Knoten an den Blatträndern der genannten Myrsinacee um Zwischenwanddrüsen, wird fallen gelassen. Die Knotenanlagen sind nach Verf. Hydathoden, die sich frühzeitig schlossen und zu Bakterienwohnstätten wurden. Eine auffallende Parallele existiert mit den von Zimmermann (1902) studierten Gebilden bei *Pavetta lanceolata* und *Grumilea mierantha* (auch bei

Psychotria nach Verf.). Diese Rubiaceen schließen sich bezüglich des Lebenszyklus der Bakterien eng an *Ardisia crispa* an. Wie ist nun das Verhältnis dieser Art zu dem *Bacterium foliicola* n. sp. aufzufassen? Sie ist das erste Beispiel für die erbliche Vergesellschaftung einer grünen Pflanze mit einem Bacterium. Vergleiche mit *Azolla* und der *Anabaena* und anderseits des *Lolium temulentum* mit dem „seed-fungus“ werden erläutert. Die untersuchten reifen Samen von *Ardisia* enthielten stets Bakterien. Ob auch *Ardisia* gelegentlich bakterienfreie Samen bildet, ist noch vom Verf. zu untersuchen. Er erwägt die Möglichkeiten, ardisienfreie Bakterien und bakterienfreie Ardisien zu züchten. Ersteres wird wohl gelingen, letzteres wird schwerer möglich sein. Die sehr frappante Ähnlichkeit der verzweigten Formen des *B. foliicola* mit dem *B. radicola* kann rein zufällig sein. Der enge Anschluß von Leitungselementen an den Knoten ist sicher bedeutungsvoll. — Inwiefern hat nun die Pflanze ein Interesse an den Bakterien?

A. Es ist die Möglichkeit vorhanden, anzunehmen, daß die Pflanze geradezu eine Falle anwendet. Für die Bakterien wäre die Vermehrung am Vegetationspunkt und im Samen allein sinnvoll, die im Knoten wäre Helotismus. Sollte letztere wirklich obwalten, so würde das Maß der für die Pflanze geleisteten Arbeit recht erheblich sein, da ja bis 50 Knoten an einem Blatte sind, die Belaubung eine reichliche ist und die Blätter lange leben. Vorläufig ist es unbekannt, welcher Art die geleistete Arbeit ist. Auch wenn Rein-kulturen versagen sollten, so werden nähere Studien des Verf. zeigen, ob sie in Stickstoffbindung besteht.

B. Es ist möglich, auch folgendes anzunehmen: An den Blattanlagen entstehen frühzeitig Drüsenorgane, die ein Sekret ausscheiden. Durch dieses wird vielleicht irgendwie der Vegetationspunkt geschützt, oder es spielt im Stoffwechsel der jungen Blätter eine Rolle. Gewisse Bakterien haben sich an dieses Milieu gewöhnt und wachsen auch in die Quelle der Ausscheidungen hinein. Die Spalte wird geschlossen, da die Drüse später die genannte Aufgabe nicht mehr hat. Rein mechanisch gehen die Bakterien nun in den Samen über. Dann hätte man es mit einem typischen Falle von Epiphytismus zu tun. — Das *B. foliicola* sondert keine Gifte ab, daher hat man es mit keiner Krankheit zu tun. Es ist wohl richtiger, an eine erbliche Symbiose zu denken. Verf. untersuchte auch andere Arten von *Ardisia*. Im Anschlusse an die Mezsche Arbeit käme man zu folgender Ansicht: Vorausgesetzt, daß die Bakterien nicht außerhalb der Pflanze vorkommen und also Neuinfektion ausgeschlossen ist, dürfte man auf einen monophyletischen Ursprung der Myrsinaceen mit Bakterienknoten schließen. Die Mezsche Gruppierung für *Crispardisia* wäre dann erwiesen, doch müßte dann auch für *Amblyanthus* und *Amblyanthopsis* ein naher Anschluß an *Crispardisia* gesucht werden. Die geographische Verbreitung würde den Beweis nur stützen.

Im oder auf dem Vegetationspunkte der vielen anderen *Ardisia*-Arten (ohne Blattknoten) fand Verf. nie Bakterien. — Es ergaben sich da noch Probleme, die Verf. aber beharrlich weiter verfolgt, was nur zu wünschen ist.

Nun einiges über das *Bacterium foliicola*: Auf den Vegetationspunkten und im Samen stellt die Art ein dünnes, oft leicht oder S-förmig gebogenes Stäbchen dar, in Schleimmassen eingeschlossen. In den Knoten aber ist es ein dickeres Stäbchen, oft Verzweigungen zeigend, durch

monum, *C. limetta*, *Sterculia diversifolia*, *S. acerifolia*, *Ficus carica*. Auf *Cidonia* und *Ficus* entwickelten sich die Gallen auffallend langsam.

Riehm (Berlin-Dahlem).

Baudyš, E., Pro Cechy nové hálky. [Für Böhmen neue Gallen]. (Sborník klubu přírodovědeckého v Praze. St. 8. 1912. p. 1—16.) [Tschech. m. deutsch. Resumé.]

1912 sammelte Verf. im Gebiete 109 für letzteres neue Gallen, von denen 57 in Houards Werken nicht verzeichnet sind, wohl aber später publiziert wurden. Als ganz neu wurden folgende Gallen beschrieben:

Ein *Pleurocecidium* auf dem Stengel des *Polygonum Hydroppiper*, erzeugt von der Larve des *Ceuthorrhynchus contractus* Gll.; tonnenförmige Auftreibung über dem Knoten.

2. Ein *Pleurocecidium* des Blattes auf *Barbarea vulgaris*, erzeugt durch *Aphis* sp.; Aufrollung nach oben.

3. Ein *Pleurocecidium* auf den Blättern von *Erysimum crepidifolium*, Erzeuger *Aphis erysimi* Klt. (?); die Blätter hülsenartig nach oben gewendet, aufgetrieben, violett gefärbt.

4. *Acrocecidium* des Stengels, geformt durch *Aphideen*, auf *Leonurus cardiaca*.

5. *Acrocecidium* des Köpfchens von *Matricaria inodora*, durch *Trypeta stellata* erzeugt. Blütenboden recht groß mit Längsscheidewand.

6. Ähnliche Galle, wie die vorige, verursacht auch auf *Matricaria inodora* durch *Ceuthorrhynchus* (*Chrysanthemi* Gyll.). Blütenboden mißgebildet, verfärbt, ellipsoidisch. Im Innern ist die Galle schwarz, opalisierend und ganz hohl.

7. *Aphideen* bilden auf *Cirsium canum* ein *Pleurocecidium* des Blattes. Randrollung nach oben.

Matouschek (Wien).

Familler, Jg., Moosgallen aus Bayern. (Hedwigia. LIII. 1913. p. 156—160, Fig.)

Eine größere Zahl von noch nicht publizierten Gallen auf Laub- und Lebermoosen werden beschrieben. Besonders sind folgende interessant:

Festgeschlossene Gallen bei der häufigen Art *Hedwigia albicans*, Antheridien zu flächenartigen Gebilden umgewandelt. — Mißbildung der ♀ Blüte bei dem Wassermoos *Cinclidotus aquaticus*. — Galle auf der Spitze von *Polytrichum formosum* mit *Anguilulen* zwischen den Blättern. — Bei *Racomitrium microcarpum* Gallen in Gestalt kleinster Schalottenzwiebeln. — Lebermoose: Bei *Lophozia alpestris* mißgebildete ♀ Blüten in Form einer geschlossenen Tulpenblüte, innen kompliziert gebildet; bei *L. Floerkei* Gallen der Vegetationsknospen. Bei *L. ventricosa* kurz gedrungene Spitzengallen. In der Nachbarschaft von Gallenherden wurden auf Nematodeneinflüsse zurückgehende Störungen bei *L. quinquedentata* (Einschiebungen von kürzeren Blattreihen zwischen Normalblätter) und bei *Leptoscyphus anomalus* (abnormale Blätter) bemerkt. Matouschek (Wien).

Ohl, J. A., Verzeichnis der von N. P. Trussow im Gouvernement Tula gefundenen Gallen. (Journ. f. Pflanzenkrankh. Bd. 6. 1912. p. 123.) [Russisch.]

Folgende Gallen wurden gefunden:

Eriophyes artemisiae auf *Artemisia vulgaris*, *E. betulae* auf Birke, *E. fraxini* auf *Fraxinus*, *E. laevis* auf Erle, *E. macrorrhynchus* auf Ahorn, *E. padi* auf Faulbaum, *E. piri* auf Birnbaum, *E. piri* var. *variolata* auf Eberesche, *E. psilonotus*, *E. rudis* var. *longisetosa*

auf Birke, *E. silvicola* auf Kastanie, *E. tetanothrix* auf Weide, *E. tiliae* auf Linde, *E. tiliae* var. *liosoma* auf Linde, *E. xylostei* auf Geißblatt, *Phyllocoptes gymnaspi* auf Ahorn, *P. populi* auf Pappel, *P. setiger* auf Erdbeere, *Myzus ribis* auf Johannisbeere, *Schizoneura ulmi* auf Ulme, *Tetraneura ulmi ebenda*, *Contarinia linariae* auf *Linaria vulgaris*, *Perrisia fraxini* auf Esche, *P. ulmariae* auf *Ulmaria filipendula*, *Rhopalomyia tanaceticola* auf *Tanacetum vulgare*, *R. tubifex* auf *Artemisia campestris*, *Andricus fecundator* auf Eiche, *Aulax glechomae* auf *Glechoma hederacea*, *Biorrhiza pallida* auf Eiche, *Neuroterus lenticularis* auf Eiche, *Pontania proxima* auf Weide und *Rhodites rosae* auf Rose.

Riehm (Berlin-Dahlem).

Schmidt, Hugo, Weitere Nachrichten über die Verbreitung gallenbildender Hymenopteren in der niederschlesischen Ebene. (Zeitschr. f. wissensch. Insektenbiol. 1913. p. 152—156.)

1. Neue Wirtspflanzen aus den Familien der Rosaceen, *Centaurea* und *Hieracium* werden angeführt; die betreffenden Gallenerzeuger gehören zu den Cynipiden.

2. Gallenerzeuger aus der Familie der Chalcididen: *Isosoma*-Gallen treten im Gebiete nur auf Gräsern auf. Man muß, um solche Gallen auf den Halmen zu finden, Halm für Halm zwischen den Fingern durchziehen, um die Anschwellungen wahrzunehmen. Die einzelnen gefundenen Gallen werden genau beschrieben.

3. Gallenerzeuger aus der Familie der Tenthrediniden: Fürs Gebiet kommen nur die Gattungen *Blennocampa*, *Pontania*, *Cryptocampus* und *Trichiocampus* in Betracht. Die von ihnen erzeugten Gallen finden sich hier nur auf Pappeln, Weiden und Rosen vor. Die neuen Gallen sind auch hier genau verzeichnet.

Im ganzen sind 96 gallenerzeugende Hymenopteren notiert. Fast ein Drittel der gallenbildenden Hymenopteren-Arten, welche Howard in seinem großen Werke anführt, finden sich in der niederschlesischen Ebene, ein Zeichen, daß die genauere Erforschung noch mehr derselben zeitigen wird.

Matouschek (Wien).

Bandyš, E., Tři nové hálky Apion vyvolané. [Drei neue durch Apion erzeugte Gallen.] (Acta Societatis Entomolog. Bohemiae. IX. No. 4. Prag 1912. p. 4, m. Fig.) [Tschechisch, mit deutschem Resumé.]

Apion minimum Herbst bildet ein Pleurocecidium des Blattes von *Salix aurita* L. Der Blattstiel ist am Grunde verbreitet mit einem kleinen, konischen Auswuchse, der ins Innere des Blattstieles führt. In der Blattstielbasis sitzt die Kammer. Die Galle ist kleiner als alle anderen bei *Salix* bekannten und so gefärbt wie das umgebende Gewebe.

Apion amethystinum Mill. verursacht ein Pleurocecidium der Sproßachse von *Trifolium pratense* L., das einseitig angeschwollen ist. Die Kammer liegt gewöhnlich im Wurzelhalse.

Apion seniculum Kirby verursacht, wie *Apion Gyllenhalii* Kbg. ein Pleurocecidium der Sproßachse von *Vicia cracca* L. Liegt die Galle an der Spitze der Achse, so sind die Blätter meist gehäuft.

Die neuen Gallen stammen aus Böhmen. Matouschek (Wien).

Cholodkovsky, N., Sur quelques insectes exotiques. (Rev. Russe d'Entomol. T. 12. 1912. p. 491—496, 10 fig.)

Pemphigus mordwilkoï n. sp. und *Pemphigus naitalensis* n. sp. erzeugen Zweiggallen auf *Populus ciliata*, *P. imaicus* n. sp. solche entlang des Hauptnerven an Blättern derselben Nährpflanzen in Gestalt einer länglichen gerade gezogenen kleinen Wurst. Das Material stammt aus Himalaya. Die Tiere werden beschrieben, auch die Gallen abgebildet. Matouschek (Wien).

Wagner, Jul., Beiträge zur Kenntnis der Gattung *Amphipsylla* Wagn. [Aphaniptera]. (Rev. Russe d'Entomol. T. 12, No. 3. St. Pétersbourg 1912. p. 574—580, 5 fig.)

Kritische Studien über *Amphipsylla sibirica* Wagn. (auf *Putorius sibirica* in Turkestan), *A. rossica* n. sp. (aus dem Gouvernement Charkow, von *Putorius vulgaris*), *A. shelkovnikovi* Wagn. (aus Kaukasus), *A. kuznetzovi* n. sp. (auf *Microtus middendorfi* im Ural). Außerdem ist *A. daea* Dampf. eine sichere zu obengenannter Gattung gehörende Art.

Matouschek (Wien).

Cobau, R., Altri cecidii della Valle del Brenta. (Atti Soc. ital. Sc. Nat. Vol. 51. 1912. p. 31—67.)

87 Zoocecidien und 4 Myocecidien werden aufgezählt. Neue Gallen wurden bemerkt auf:

Amarantus hypochondriacus, erzeugt von *Aphis Rumicis*?
Carduus defloratus var. *glaucus*, erzeugt durch eine Aphide,
Coronilla coronata, erzeugt von einer Cecidomyide,
Cynodon Dactylon, erzeugt von einem Schmetterling,
Erigeron annuus, erzeugt von einer *Aphis Myosotidis*?
Galium cruciata, erzeugt von einer *Perrisia gallicola*?
Hieracium porrifolium, erzeugt von einer *Aulacidea Hieracii*,
Phyteuma Scheuchzeri, erzeugt von einer Coccide,
Polygonum Persicaria, erzeugt von Nematoden?,
Rhamnus saxatilis, erzeugt von *Trichopsylla Walkeri*,
Salix hastata, erzeugt von *Pontania proxima*,
Salix incana, erzeugt von *Eriophyes salicis*,
Solidago virgaurea, erzeugt von einer Aphide.

Matouschek (Wien).

Houard, Les galles des Crucifères de la Tunisie. (Ass. fr. Avanc. Sc. Congrès de Dijon. 1911. p. 495—499; 1913 erschienen.)

Cystopus candidus Lév. deformierte am Stamme und an der Influenz *Moricandia cinerea* Coss. — *Baris parsina* Boh. var. (Rüsselkäfer) bringt Gallen auf Zweigen von *Moricandia arvensis* DC. var. *suffruticosa* Coss. hervor. Auf dieser Pflanzenart sowie auch auf *Cakile maritima* Scop. var. *aegyptiaca* Coss., *Hirschfeldia geniculata* B. et Trab., *Diplotaxis erucoides* DC., *D. pendula* DC., *Eruca sativa* Lk., *Rapistrum Linnaeanum* B. et Rtr. wurden Dipterocecidien gefunden.

Matouschek (Wien).

Miehe, Hugo, Javanische Studien V. Die Bakterienknoten an den Blatträndern der *Ardisia crispa* A. DC. (Abh. d. math.-physisch. Kl. d. kgl. sächs. Gesellsch. d. Wiss. Bd. 32. p. 399—431.)

Die Ansicht Höhnels, es handle sich bei den Knoten an den Blatträndern der genannten Myrsinacee um Zwischenwanddrüsen, wird fallen gelassen. Die Knotenanlagen sind nach Verf. Hydathoden, die sich frühzeitig schlossen und zu Bakterienwohnstätten wurden. Eine auffallende Parallele existiert mit den von Zimmermann (1902) studierten Gebilden bei *Pavetta lanceolata* und *Grumilea mierantha* (auch bei

Psychotria nach Verf.). Diese Rubiaceen schließen sich bezüglich des Lebenszyklus der Bakterien eng an *Ardisia crispa* an. Wie ist nun das Verhältnis dieser Art zu dem *Bacterium foliicola* n. sp. aufzufassen? Sie ist das erste Beispiel für die erbliche Vergesellschaftung einer grünen Pflanze mit einem Bacterium. Vergleiche mit *Azolla* und der *Anabaena* und anderseits des *Lolium temulentum* mit dem „seedfungus“ werden erläutert. Die untersuchten reifen Samen von *Ardisia* enthielten stets Bakterien. Ob auch *Ardisia* gelegentlich bakterienfreie Samen bildet, ist noch vom Verf. zu untersuchen. Er erwägt die Möglichkeiten, ardisienfreie Bakterien und bakterienfreie Ardisien zu züchten. Ersteres wird wohl gelingen, letzteres wird schwerer möglich sein. Die sehr frappante Ähnlichkeit der verzweigten Formen des *B. foliicola* mit dem *B. radicola* kann rein zufällig sein. Der enge Anschluß von Leitungselementen an den Knoten ist sicher bedeutungsvoll. — Inwiefern hat nun die Pflanze ein Interesse an den Bakterien?

A. Es ist die Möglichkeit vorhanden, anzunehmen, daß die Pflanze geradezu eine Falle anwendet. Für die Bakterien wäre die Vermehrung am Vegetationspunkt und im Samen allein sinnvoll, die im Knoten wäre Helotismus. Sollte letztere wirklich obwalten, so würde das Maß der für die Pflanze geleisteten Arbeit recht erheblich sein, da ja bis 50 Knoten an einem Blatte sind, die Belaubung eine reichliche ist und die Blätter lange leben. Vorläufig ist es unbekannt, welcher Art die geleistete Arbeit ist. Auch wenn Reinkulturen versagen sollten, so werden nähere Studien des Verf. zeigen, ob sie in Stickstoffbindung besteht.

B. Es ist möglich, auch folgendes anzunehmen: An den Blattanlagen entstehen frühzeitig Drüsenorgane, die ein Sekret ausscheiden. Durch dieses wird vielleicht irgendwie der Vegetationspunkt geschützt, oder es spielt im Stoffwechsel der jungen Blätter eine Rolle. Gewisse Bakterien haben sich an dieses Milieu gewöhnt und wachsen auch in die Quelle der Ausscheidungen hinein. Die Spalte wird geschlossen, da die Drüse später die genannte Aufgabe nicht mehr hat. Rein mechanisch gehen die Bakterien nun in den Samen über. Dann hätte man es mit einem typischen Falle von Epiphytismus zu tun. — Das *B. foliicola* sondert keine Gifte ab, daher hat man es mit keiner Krankheit zu tun. Es ist wohl richtiger, an eine erbliche Symbiose zu denken. Verf. untersuchte auch andere Arten von *Ardisia*. Im Anschlusse an die Mezsche Arbeit käme man zu folgender Ansicht: Vorausgesetzt, daß die Bakterien nicht außerhalb der Pflanze vorkommen und also Neuinfektion ausgeschlossen ist, dürfte man auf einen monophyletischen Ursprung der Myrsinaceen mit Bakterienknoten schließen. Die Mezsche Gruppierung für *Crispardisia* wäre dann erwiesen, doch müßte dann auch für *Amblyanthus* und *Amblyanthopsis* ein naher Anschluß an *Crispardisia* gesucht werden. Die geographische Verbreitung würde den Beweis nur stützen.

Im oder auf dem Vegetationspunkte der vielen anderen *Ardisia*-Arten (ohne Blattknoten) fand Verf. nie Bakterien. — Es ergaben sich da noch Probleme, die Verf. aber beharrlich weiter verfolgt, was nur zu wünschen ist.

Nun einiges über das *Bacterium foliicola*: Auf den Vegetationspunkten und im Samen stellt die Art ein dünnes, oft leicht oder S-förmig gebogenes Stäbchen dar, in Schleimmassen eingeschlossen. In den Knoten aber ist es ein dickeres Stäbchen, oft Verzweigungen zeigend, durch

Teilung rasch sich vermehrend, ohne Schleim. Die Kultur ergab nie Sporen, Reinzucht war nicht möglich. Ob das Bacterium mit dem in Rubiaceen vorkommenden verwandt ist, muß erst entschieden werden.

Matouschek (Wien).

Bernard, Noël, Sur la fonction fungicide des bulbes d'Ophrydées. (Ann. scienc. natur. Sér. g. Bot. T. 14. p. 221—234.)

Eine der letzten Arbeiten des Verf., die er leider nicht mehr zu Ende führen konnte. Constantin und Magrou veröffentlichen nach den hinterlassenen Aufzeichnungen des Verf. die mit Loriglossum-Knollen und den Wurzelpilzen von Orchismoris und anderen Arten angestellten Versuche, welche folgende Resultate ergeben haben:

Ophrydeenknollen enthalten eine pilztötende, diastaseähnliche Substanz, die bei 55° zerstört wird. Dieselbe ist noch in größter Verdünnung, jedoch nicht gegen alle Orchideenpilze in gleicher Weise wirksam.

W. Herter (Tegel).

Miehe, Hugo, Javanische Studien. II. Untersuchungen über die javanische Myrmecodia. (Abhandl. d. math.-phys. Kl. d. kgl. sächs. Gesellsch. d. Wissensch. Bd. 32. p. 312—361.)

Zweierlei Höhlenpartien kommen in die Knolle der malayischen Rubiacee, Myrmecodia tuberosa, gelbe und glatte, anderseits schwärzliche und warzige vor. Die ersteren fand Verf. ohne Pilzvegetation, letztere sind von Pilzen stets besiedelt. Schwierig gestaltete sich die Kultur des Pilzes, der in die Verwandtschaft der Cladosporium- und Cladotrichum-Arten gehört. Er wuchs langsam und gedieh innerhalb enger Temperaturgrenzen am besten bei 25—30° C. Fruktifikation wurde nicht erzielt. Der Pilz kann aus nichtsterilem Substrate von außen in die Knolle gelangen, die Ameisen schleppen ihn nicht in die Knollen. Die Verbreitung des Pilzes wird damit erklärt, daß die Tierchen in bestimmten Teilen der warzigen Kammern den Kot ablegen. Derselbe wird vom Pilze verarbeitet. Der Pilz gelangt auch nicht etwa durch Fremdkörper in die schwärzlichen Kammern, was genau nachgewiesen wird. Dies sowie das sehr zurückgezogene Leben der Tierchen spricht dafür, daß der Pilz von den Ameisen nicht kultiviert wird. Es ist da nötig, die Ansicht des Verf. über die Entstehung der Ameisenwohnungen mitzuteilen: Die zu epiphytischer Lebensart übergehenden Rubiaceen (Verf. berücksichtigt auch Hydnohytum montanum) besaßen zuerst Knollen als Wasserspeicher, also Knollen mit Hohlräumen, die das Gewicht verringern. Auf eine vorderhand unerklärte Weise kam es zur Kommunikation der Hohlräume mit der Außenwelt. Das im Innern der Knolle nun rieselnde Wasser wurde durch die Warzen aufgesogen, was die Warzen auch jetzt noch tun. Vielleicht nehmen sie auch Sauerstoff auf, behufs der Atmung der Knolle sicher von Vorteil. Dann haben die Ameisen die Hohlräume aufgesucht, was der Pflanze Vorteil brachte, so daß eine gewisse Abhängigkeit eintrat. Die schwarzen Kammerwände enthalten Nitrate, was wohl auf die Gegenwart nitrifizierender Bakterien zurückzuführen ist. Fraßbeschädigungen an den Myrmecodien wurden nie gesehen, daher schützen wohl die Ameisen (Iridomyrmex) die Pflanze. Doch scheint diese Gattung nicht auf die Myrmecodien beschränkt zu sein. Sie werden vertrieben (beim Übertragen in den Garten) durch kriegerische schwarze Ameisen. Manchmal fand Verf. die Myrmecodien an ihrem natürlichen Standorte von Camponotus maculatus Fabricius var.

pallidus Smith bewohnt. — Außerdem notiert Verf. noch folgendes: Die Pilzrasen sehen mitunter wie rasiert aus, die Hyphenenden wurden wohl von der Ameise abgebissen. Beim Übertragen der Knollen in den Garten zu Buitenzorg zeigte der Pilz nur dann ein gleiches Gedeihen, wenn die ehemalige Bevölkerung vorhanden war. Wie bei *Myrmecodia* zeigte sich auch bei der zweiten oben genannten Rubiacee eine schwächere Pilzvegetation, wenn die erwähnten schwarzen Ameisen sich ansiedelten oder wenn Ameisenleere Knollen in den Garten übertragen wurden. Das Temperaturmaximum in der Knolle betrug 33,2° C, die tägliche Schwankung im Maximum 10°. Das Wurzelsystem allein vermag in dauerndem Kontakt mit Wasser einige Tage lang den Transpirationsverlust zu decken.

Matouschek (Wien).

Kusano, L., *Gastrodia elata* and its symbiotic Association with *Armillaria mellea*. (Journal College of Agricult. Tokyo. Vol. IV. 1912. No. 1.)

Nur ein einfaches rübenartiges Rhizom hat die genannte Orchidee. Dasselbe lebt mit *Armillaria mellea* in Symbiose.

Matouschek (Wien).

Schwartz, E. T., Observations on *Asarum europaeum* and its Mycorrhiza. (Ann. of Bot. Vol. 26. 1912. p. 769—776, 1 pl.)

Es handelt sich um eine endotrophische Mycorrhiza. Anschwellungen findet man in den Zwischenräumen der Hyphen, welche als ruhende Stadien des Pilzes gedeutet werden. Interessanterweise wird an befallenen Wurzeln der Pflanze die Zahl der Wurzelhaare stark vermindert. In den anderen bisher bekannten Fällen kommt es stets zu einer Anreicherung der letzteren.

Matouschek (Wien).

Jacobson, Edw., Symbiose zwischen der Raupe von *Hypoclypea erylus* Godart und *Oecophylla smaragdina* Fab. (Tijdschr. v. Entomol. LV. 1912. p. 9—14, m. 2 Taf.)

Die Raupen des genannten Bläulings leben auf der Rubiacee *Vangueria spinosa* Rosch. und tröpfeln aus einem Porus am Rücken eine süße Flüssigkeit ab, die von der Ameise genossen wird. Die Pflege durch die Ameisen ist den Raupen aber unbedingt nötig, wie genaue Versuche dartun.

Matouschek (Wien).

Spratt, E. R., Some Observations of Life History of *Anabaena Cycadeae*. (Ann. of Bot. Vol. 25. p. 369—380, av. 1 pl.)

Die Algen leben in einer Zone zwischen den Rindenzellen unterhalb der Epidermis. *Pseudomonas radicola* und *Azotobacter* sind nach *Bottomley* ständige Begleiter. Jede reife Zelle der Alge hat zwei Hüllen, eine innere und eine äußere, dazu noch außen die Schleimschicht. In nicht scharf abgegrenzten Chromatophoren befinden sich die Farbstoffe Chlorophyll und Phycocyanin. Glykogen erscheint als erstes Produkt der Assimilation. Cyanophycinhaltige Körnchen sind in größerer Zahl vorhanden. Terminale und interkolare Heterocysten entstehen aus vegetativen Zellen, sie lösen sich los. Ihre Funktion ist folgende: Abgrenzung der Fäden (vegetative Vermehrung), Speicher für Reservestoffe, zur Bildung der Gonidien. Die Exo- und Endospore entsprechen den beiden oben genannten Zellhäuten. Vier Arten von Sporenkeimung gibt es: Der Inhalt der Spore tritt heraus durch eine Pore der Sporenmembran, oder die Sporenmembran zerreißt,

oder die Sporenmembranen werden schleimig, oder der Inhalt teilt sich, bevor er die Spore verläßt. Die Gonidien werden durch eine Wiederverjüngung und darauffolgende Teilung des Inhaltes der Heterocysten gebildet. Innerhalb der Membranen der Heterocysten erscheint eine besondere Membran. Jede der sphärischen Gonidien kann durch Teilung einen neuen *Anabaena*-Faden bilden. Die Blaualge kann sich in der Erde in Form von Heterocysten und Sporen erhalten; letztere entstehen in den Gonidien und diese dringen in die Tuberkeln an den *Cycas*-Wurzeln durch die Lentizellen ein.

Matouschek (Wien).

Peklo, Jaroslav, Über symbiotische Bakterien der Aphiden. (Ber. Deutsch. Botan. Gesellsch. Bd. 30. 1912. p. 416—419.)

Über die Symbiose zwischen Insekten und Mikroorganismen teilt Verf. in dieser vorläufigen Mitteilung einige eigene Untersuchungen mit. Die schon von *Krassiltschik* im sog. Chylus-Magen von *Aphis*-Arten beschriebenen Stäbchenbakterien werden aus einer gelblich-grünen *Aphis*-Art, die auf *Acer platanoides* lebt, isoliert und in verdünnte Bouillon mit 6 Proz. Saccharose-Zusatz kultiviert. Charakteristische Involutionsformen, die sowohl in älteren Blattläusen, als auch in den Reinkulturen auftraten, haben sich als verlässliches Mittel zur Identifizierung der Spezies erwiesen. Verf. vermutet, daß die reingezüchteten Mikroorganismen vielleicht zur Gattung *Azotobacter* gehören, was zur Erhärtung der Meinung beitragen könnte, daß der Sinn der Insektensymbiose in der Assimilation des elementaren Stickstoffs zu suchen sei.

Über die weitere Verbreitung der Bakterien im Aphidenleibe liegen noch keine Untersuchungen vor. Eine ganz ähnliche Bakterienform hat Verf. auch in einer *Schizoneura*-Art entdeckt.

K. Müller (Augustenberg).

Teodoro, G., Ricerche sull' emolinfia dei Lecanini. (Atti Accad. Veneto-Trentino-Istria. Sér. III. Vol. 5. 1912. 15 pp.)

Durch die Arbeiten von *Pierantoni* und *Šulc* ist die Symbiose zwischen pflanzenfressenden Insekten und Hefen beleuchtet worden. Verf. gibt neue Beispiele: In den Weibchen von *Lecanium Oleae*, *L. Hesperidium*, *Pulvinaria camelicola* und *P. Vitis* findet man immer freie Zellen, welche zu *Saccharomyces apiculatus* var. *parasitus* v. *Lindn.* gehören.

Matouschek (Wien).

du Quinsou, Les parasites des végétaux. (La Coopération Agric. 1913. No. 14.)

Article de vulgarisation traitant principalement de la symbiose entre les microbes et végétaux (Légumineuses, Orchidées, Pommes de terre, Vanille).

Kufferath (Bruxelles).

Zellner, J., Die Symbiose der Pflanzen als chemisches Problem. (Beih. z. Botan. Centralbl. Abt. I. Bd. 28. 1912. p. 473—486.)

Verf. zeigt, wo neue Untersuchungen einsetzen sollen. Die Unterschiede in der chemischen Zusammensetzung der Symbionten sind ja noch ungenügend bekannt. Sonderbar ist die neu aufgestellte Ansicht, die Mykorrhizenpilze hätten den Symbionten mit Wasser zu versorgen. Bei den Flechten werden die in den einzelnen Symbionten vorhandenen Stoffe in Tabellenform zusammengestellt, aber auf die Untersuchungen *Toblers* nicht näher eingegangen. Neu sind die Angaben über die Bestandteile des Mutter-

kornes und Roggens, des Maisbrandes und Maises, der *Trametes suaveolens* und Weidenrinde bzw. -Holz. Bei *Viscum*, *Cuscuta* und anderen höheren Pflanzen zeigt sich der Aschegehalt größer als der der zugehörigen Nährpflanzen. Von der Mistel meint Verf., daß sie deswegen auf gewissen Wirtspflanzen nicht vorkomme, weil sie ihr nicht gut bekommende Stoffe entnehme.
Matouschek (Wien).

Stephens, Edith, Note on the Anatomy of *Striga lutea* Lour. (Ann. of Bot. Vol. 26. 1912. p. 1125—1126.)

—, The Structure and Development of the Haustorium of *Striga lutea*. (Ebendort. p. 1067—1075, 1 Taf.)

In der ersten Mitteilung stellt Verf. fest, daß der genannte grüne Halbschmarotzer in seiner Anatomie die engsten Beziehungen zu der anderer Rhinanthoideen aufweist. Die Wurzeln bilden keine Wurzelhaare, auch konnten Siebröhren in ihnen nicht nachgewiesen werden.

In der zweiten Abhandlung wird die Anatomie des Haustoriums behandelt und illustriert und es geht klar daraus hervor, daß *Striga* Haustorien, die den typischen Bau jener der Rhinanthoideen aufweisen, bildet. Auffallend ist, daß Verf. die ganze Literatur deutscher Autoren im Gegenstande nicht kennt oder doch ignoriert. Weder Solms-Laubach, noch Koch, noch Sperlich usw. werden zitiert. Ebensowenig kennt Verf. des Ref. Studien über *Lathraea*, wie auch nicht die in 6 umfassenden Arbeiten behandelten grünen Halbschmarotzer der Rhinanthoideen. So erscheint ihr manches ihrer Resultate neu, während es sich doch um längst festgestellte Dinge handelt. In manchen Auffassungen dürfte Verf. aber wohl auch irre gehen. Für den Kundigen enthalten nebenbei gemachte Bemerkungen Wichtiges und lassen *Striga* als einen sehr interessanten Vertreter in der Rhinanthoideen-Gruppe erkennen. Wir erfahren, daß die Pflanze auch einen unterirdischen Sproß mit „tooth-like“-Blättern besitzt, was darauf hinweist, daß in ihr ein unserer *Tozzia* in der Lebensweise nahestehender Parasit vorliegen dürfte. Dieselben Momente lassen vermuten, daß die Bezeichnung von *Striga* als „semi-parasitic annual“ kaum sich bewahrheiten wird. Die Pflanze findet sich zerstreut in Zululand, Natal und Transvaal und parasitiert auf verschiedenen, dort einheimischen Gräsern und besonders auch auf *Zea Mays*. Heinricher (Innsbruck).

Lotrionte, G., La semina profonda e l'Orobanchella della fava. (Stazioni speriment. agrar. Vol. 45. 1912. p. 654—680.)

Die seit 1903 vom Verf. in verschiedenen Ortschaften Mittelitaliens ausgeführten Versuche zur Bekämpfung der Saubohnensommerwurz (*Orobancha crenata* Forsk.) nach seiner Methode werden näher beschrieben und die Unzulänglichkeit einiger gegenteiligen Angaben von Degli Albizzi und Morettini nachgewiesen. Er weist dann auf einige Punkte hin, die bei der Anstellung solcher Versuche nicht übersehen werden dürfen. Zuletzt wird eine detaillierte Anweisung zur Anwendung der Methode gegeben, die im wesentlichen in der frühzeitigen, je nach der Bodenbeschaffenheit 15—30 cm tiefen Reihensaat und der Bedeckung der Samen mit einer 5—7 cm hohen, lockeren Bodenschicht besteht, wodurch die Bohnenpflanzen ein tieferes, kräftiges Wurzelsystem entwickeln und zum Samenansatz vor dem Sommerwurzbefall kommen.
Pantaneli (Rom).

Cannon, W. A., Structural Relations in Xenoparasitism. (Amer. Natural. Vol. 46. 1912. p. 675—681.)

Cissus laciniata („Mexican grape“) verpflanzte man in eine künstlich erzeugte Wunde (Schnitt) der *Opuntia blakeana*. Der Parasit wuchs kräftig heran. Die anatomische Umbildung und der Struktur in letzterem als auch im Wirt wird beschrieben. Der Parasit hat in diesem Falle einen hohen Grad der Anpassungsfähigkeit und morphologische Bildsamkeit.
Matouschek (Wien).

Heinricher, E., Ernährungsphysiologische Rassen der Mistel. (Kosmos. 1913. p. 45—49.)

1. Für die von v. Tubeuf aufgestellten drei spezifischen Rassen der Mistel, der Laubholz-, Kiefern- und Tannenmistel, hat Verf. den nötigen Beweis durch seine Versuche in unzweifelhafter Weise erbracht. So eng aber, wie die Namen besagen, sind diese Rassen nicht begrenzt; denn die Tannenmistel kann auch auf der Nordmannstanne und sogar mit besserem Erfolge gezogen werden. Die Kiefernmistel konnte Verf. auch auf *Cedrus atlantica* und *Larix leptolepis* übertragen. Die Fichtenmistel ist nur ein Abkömmling der Kiefernmistel, da nach Verf. letztere doch auf der Fichte gezogen werden kann.

2. Die Verhältnisse bei den Laubholzmisteln dürften eine völlige Parallele zu jenen bei den Nadelholzmisteln darstellen, nur daß sie infolge des Reichtums an Laubbölzern verwickelter sind und die Zahl der tauglichen Wirte für jede Rasse noch beträchtlicher sein wird als es z. B. für die Kiefernmistel feststeht. Dies zeigen auch die bisherigen Versuche des Verf. Die Lindenmistel z. B. geht auf die Schwarzpappel und den Platanenahorn schwer über, was doch für eine Spezialisierung spricht. Die Giftwirkung spielt hierbei auch eine Rolle; sie ist am stärksten bei den kultivierten Birnen vorhanden. Die belegten Zweige sterben an den Stellen, wo die Mistelkeime sitzen, ab; durch das Abgliedern der Zweige sind diese gewissermaßen immun gegen Mistelbefall. Doch wurde auch eine Gewöhnung an das Mistelgift bemerkt. Einen weiteren Schutz gewährt die Glattrindigkeit der Bäume. Die systematische Verwandtschaft der Wirtsbäume begünstigt zumeist den Übergang der Mistel von einem zum anderen, aber entscheidend ist sie nicht, da stoffliche Qualitäten in den Vordergrund treten, z. B. die Lindenmistel geht auf den Apfelbaum und auf *Corylus* über, die Apfelmistel gar auf Weiden.

3. Die Kenntnis von den ernährungsphysiologischen Rassen ermöglicht als Wirte Pflanzen zu wählen, durch die jede Gefährdung des Obstbaues und der Forstwirtschaft seitens der Mistel ausgeschlossen wird.

Matouschek (Wien).

Paque, E., L'état de 1911 et le monde des Champignons. (Bull. de la Soc. roy. de Bot. de Belgique. T. 48. 1912. p. 97—98).

Note sur l'action spéciale de la chaleur estivale sur le développement des champignons: les Hyménomycètes sont restés rares, les Hypoxylés ont été assez abondants. La chaleur surtout a favorisé le développement des Erysiphacées (*Oïdium*) qui ont abondamment fructifié. Seul l'*Oïdium* du Chêne [*Phyllactinia Corylea* (Pers.) Karsten] n'a pas fructifié.

H. Kufferath (Bruxelles).

Koenen, Otto, Wirkungen des trockenen Sommers 1911 auf die Pflanzenwelt. (40. Jahresber. d. westfäl. Provinzial-Verf. Wissensch. u. Kunst. Münster i. W. 1912. p. 150 u. p. 157.)

Nach dem verfrühten Laubfalle wurden die Linden wieder grün. Viele Obst- und Ziersträucher blühten zum zweitenmal, desgleichen die Roßkastanie. — *Vaccinium myrtillus* blühte im Warsteiner Walde von 290—500 m überall zum zweitenmal, desgleichen die Himbeere. Im Januar 1911 blühte hier *Heracleum sphondylium* und *Veronica Tournefortii*. Bei ersterer Art war die stark rote Färbung der Blütenblätter auffallend. Infolge der großen Hitze und Trockenheit des Sommers machten die Knospen eben eine verfrühte Ruheperiode durch.

Matouschek (Wien).

Brick, C., Einige Schutzvorrichtungen tropischer Farne gegen Vertrocknung. (Verhandl. d. naturwiss. Ver. Hamburg 3. F. XIX. 1912. p. 71.)

Polypodium biforme (Südamerika) zeigt wassersammelnde Urnenblätter mit Wurzeln am kriechenden Wurzelstocke; *P. Brunoi* (Costarica) hat hohle, gekammerte Knollen. Bei *Nephrolepis cordifolia* hängen am Rhizom wasserspeichernde Knollen von Haselnußgröße; *Hymenophyllum Ulei* (Brasilien) findet man am Wurzelstocke kleine, mit Spreuschuppen besetzte Knöllchen. Mitunter gibt es zarte Blätter, die mit ihrer ganzen Oberfläche Wasser aufnehmen und in ihren inneren Geweben speichern können, sie haben keine Spaltöffnungen und Interzellularräume und ihre Gefäßbündel sind reduziert, z. B. bei *Asplenium obtusifolium* (Südamerika), *Pteris Kunzeana* (Vorblätter), *Hemitelia capensis* und *Cyathea Boivini* (Adventivblätter), *Aspl. multilineatum* und *Lindsaya*-Arten (Samoa, hier Niederblätter). *Stenochlaena sorbifolia* hat am kletternden Rhizom eine Menge tiefgrüner angepreßter Blätter, die Wasserspeicher vorstellen. Bei *Sphenopteris*- und *Pecopteris*-Arten sind die Aphlebien auch solche wasserspeichernde Organe.

Matouschek (Wien).

Simroth, H., Bemerkungen über den Einfluß des letzten Sommers. (Natur. 1912. p. 202—206.)

Nur eigene Beobachtungen werden verwertet und notiert: Selleriepflanzen schickten sich, ohne die knollige Pfahlwurzel gebildet zu haben, direkt zum Blühen an. Löwenzahn blühte im Fichtelgebirge im August von neuem. Der aufgepfropfte Birnzweig (jahrelang Früchte tragend) einer Pflanzhybride zwischen Eberesche und Birne starb im Sommer ab, die Eberesche blieb erhalten. Preiselbeeren versagten im Fichtelgebirge ganz. Das *Oidium* des Weinstockes brachte am Rhein und bei Leipzig fast keine Schädigung hervor. Die Mecklenburgischen Erlen gediehen sehr gut, von einer Pilzerkrankung war nichts zu sehen. In den größten Baumschulen trat das Unkraut durchwegs stark zurück, die Blattläuse ebenfalls. Die Sauerwurm am Weinstock war diesmal unschädlich. Kohlweißling und Goldafter (*Euproctis chrysorrhoea*) traten aber stark auf. Pilzmücken auf Pilzen waren selten; gegenteilig verhielt sich die Stubenfliege.

Matouschek (Wien).

von der Goltz, Über die Folgen der Dürreperiode 1911. (Forstwissensch. Centralbl. Jg. 35. 1913. p. 89—90.)

Die Wirkungen werden in bezug auf ein beschränktes Gebiet: Dieuze in Lothringen, dargestellt. 1880 wurde hier mit der Überführung in Hochwald begonnen; im stark durchforsteten Mittelwald erfolgte eine Anpflanzung

mit verschulten Fichten in 1,2 m Verband, alle 3—4 Jahre wurde über der Kultur gelichtet und im Alter von 10—15 Jahren abgeräumt. Die Trocknis 1911 hat alle diese gesunden Kulturen bis zu etwa 12-jährigem Alter fast ganz vernichtet, die älteren stark geschädigt. Besonders litten die Kulturen mit verrastem Grunde. Die Eiche und Kiefer waren widerstandsfähiger, dagegen wurden die seit 10 Jahren ausgeführten Pflanzungen mit Buchenwildlingen zwischen Eichensaaten vernichtet; Kiefer muß an ihre Stelle treten. Das Gebiet besteht aus Keupersandstein, überlagert von Liaskalk.

Matouschek (Wien).

Grohmann, Die Rauchschäden und deren forstliche Bedeutung. Vortrag. (Forstwissensch. Centralbl. Jg. 34. 1912. p. 565—568.)

Die in Sachsen auftretenden Rauchschäden sind entweder **akute oder Ätزشäden**: Durch Salpeter- oder Schwefel- oder Salzsäure, dann fluorhaltige Gase hervorgerufen, schnell sich bemerklich machend. Die Nadeln sterben am jüngsten Triebe ab, bei Laubhölzern entstehen zuerst gelbe und braune Blattränder. Oder es sind **chronische oder Assimilationsschäden**: hervorgerufen wohl nur durch die schweflige Säure. Ein Teil des in den Zellen der Fichtennadel z. B. beim Zerlegen der CO₂ frei werdenden Sauerstoffs wird zur Oxydierung der letztgenannten Säure zu Schwefelsäure verwendet, welche das Vegetationswasser chemisch bindet und nicht zur Ausatmung kommen läßt. Am meisten leidet da die Fichte, dann die Tanne, Kiefer, Lärche, die Laubhölzer leiden gar nicht. Dieser Schaden macht sich oft bis auf 30 km Entfernung bemerkbar. Das Absterben älterer Tannen in Sachsen ist wohl auf diese Krankheit zurückzuführen. Gegen diese gegebene Einteilung wendet sich bei der Diskussion Gerlach (Waldenburg): Es können beide Arten von Schäden an einem Schadobjekt zugleich auftreten, eine scharfe Trennung der Arten sei undurchführbar. Eigene Beobachtungen belehrten ihn, daß chronische Schäden bei den Laubholzschutzstreifen an Eichen, Rotbuchen, Erlen, Birken auch auftreten. — Die forstliche Bedeutung der Rauchschäden: die größte Kalamität, von der jemals die Nadelholzwälder heimgesucht wurden; der Verlust an Qualitäts- und Quantitätszuwachs ist ein ganz bedeutender, ältere und junge Bestände sterben ab. Die Bodengüte geht durch Verlichtung der Bestände und nachfolgende Verunkrautung zurück, das Kränkeln der Bestände vermehrt die Insektenbeschädigungen. Geringen Erfolg haben hohe Essen, Rauchsäurefanganlagen usw. In der Diskussion erläutert Wislicenus die Essen zur Zerwirbelung der Rauchgase (Dissipatoren). Verf. empfiehlt die Anlage von Laubholzschutzstreifen, Anwendung größter Vorsicht bei Ausführung von Läuterungen, Einlegung von Loshieben, Rändelungen und Durchforstungen, durch welche das Vordringen der Abgase in die Bestände erleichtert werden könnte. Die Feuchtigkeit des Bodens ist in jeder Weise zu erhalten, womöglich durch Zuleitung zu vermehren, umfangreiche Wasserabgaben aus dem Walde sind zu vermeiden. Gerlach meint (bei der Diskussion), daß die Verdunstung rauchkranker Fichten eine wesentlich geringere ist, so daß in rauchkranken Beständen der Boden versauert und selbst versumpft, da diese Bäume die vorhandene Wassermenge nicht zu verarbeiten vermögen.

Matouschek (Wien).

Wehsarg, O., Das Unkraut im Ackerboden. (Arb. d. Deutsch. Landwirtschaftsgesellsch. 1912. Heft 226.) 2 M.

32 Bodenproben (13 Wirtschaften Deutschlands entstammend) wurden in bezug auf den Unkrautsamengehalt untersucht. Es wird die Art, Zahl und Ausdauer der aufgelaufenen Unkräuter genau bestimmt. Es zeigt sich, daß für bestimmte Kräuter eine Periodizität der Keimfähigkeit existiert, speziell für Deutschland.

M a t o u s c h e k (Wien).

Bauer, A., Spisok sornich rastenij Wladimirskoj gub. [Verzeichnis der Unkräuter des Gouvernements Wladimir.] (Trudi Wladimirsk. obsc. lubit est estwozu. III. 1912. p. 21—50.)

Die im genannten Gouvernement gefundenen Unkräuter, 272 an der Zahl, werden, nach Englers System geordnet, mitgeteilt. Bisher lag eine solche Liste, die ja für Samenkontrollstationen wichtig ist, nicht vor.

M a t o u s c h e k (Wien).

Kraus, C., Die gemeine Quecke (*Agriopyrum repens* P. B. (Arb. d. Deutsch. Landwirtsch.-Gesellsch. H. 220. Die Bekämpfung des Unkrautes. St. 6.) 8°. VIII + 152 pp., 19 Tafeln. Berlin 1912. 1,50 M.

In der Einleitung die Benennungen der gemeinen Quecke im Volksmunde und in der Botanik, Varietäten, systematische Stellung. Die gemeine Quecke findet sich in ganz Europa (häufiger im Norden), in Asien, Nordafrika, Nord- und Südamerika. In der Schweiz geht sie bis 2130 m. Interessant sind die ausführlichen Bemerkungen über die Verbreitung des Unkrautes auf den verschiedenen Böden. — Wie gelangt die Quecke auf Wiesen und Weiden, und wie breitet sie sich auf Ackerland aus? Vermöge der Ausläufer wandert sie vom Feldrande, von Grasrainen, Hecken, Gebüsch, Gräben usw. auf die Felder und Wiesen ein. Doch kommt der Samenverbreitung auch eine große Rolle zu. Infektion des Ackerlandes durch queckenhaltiges Saatgut ist nicht ausgeschlossen. — Schaden und Nutzen der gemeinen Quecke: Sie wird namentlich lästig durch die Nährstoffentziehung. Als Bewohner der Grasflächen ist sie gar nicht so verächtlich. Die Rhizome eignen sich als Futter gut, ebenso als Dünger und Einstreu; werden sie auf den Komposthaufen gegeben, so muß für ihre Zerstörung gesorgt werden (Kalk, Kloakendünger). — Es folgt die genaue Beschreibung der gemeinen Quecke (oberirdische und unterirdische Teile, namentlich der Ausläufer, Anatomie). — *Parasiten der Quecke*: Queckenansiedlungen können zu Brutstätten folgender Schädlinge werden, die dann von da aus auf unsere Kulturpflanzen (besonders Getreide) übergehen: *Hipparchia Egeria* (Queckenrandauge), *Hadena basilinea* (Queckeneule), die Milben *Pediculoides gramineus*, *Eriphyas cornutus* E. R., *Tetranychus telarius*, ferner *Heterodera radiculicola* und *Schachtii*. *Tarsonemus*-Arten erzeugen Erineum-artige Cecidien; *Isosoma graminicola* verursacht nach Howard Gallenbildungen. Die Pilzschädlinge sind nach Sorauers Handbuch der Pflanzenkrankheiten angegeben. Wegen der teilweisen Identität der Rostpilze auf Quecken mit solchen auf Getreide wird stets zur Vorbeugung gegen diese Getreideroste die Beseitigung der Quecke aus der Nähe der Felder verlangt. — Neue Daten bringt das Kapitel: Die Entwicklung der Quecke und die Verbreitung der Ausläufer in der Erde: Die Samen sind gleich nach der Reife keimfähig. Mit der Entwicklung der oberirdischen Triebe in der Frühjahrshaupttriebsperiode beginnt auch die Entwicklung der Ausläufer. Letztere reichen bis 15 cm hinunter, aber die größte Menge der Ausläufer ist

12*

in der flachen Erdschichte von etwa 10 cm vorhanden. Zur Erklärung der Unterschiede in den Richtungen, welche die Queckenausläufer einzuschlagen vermögen, ist auf ihr unterschiedliches Verhalten gegenüber der Schwerkraft hinzuweisen.

Der Übergang vom Transversalgeotropismus und vom positiven Geotropismus zum negativen (also Aufwärtskrümmung des zuletzt zugewachsenen Teils eines bis dahin horizontal oder abwärts gewachsenen Ausläufers, wodurch dessen Spitze aufwärts gestellt wird) tritt ein, wenn die oberirdischen grünen Teile, aus denen der Ausläufer entspringt und von denen er die organischen Baustoffe erhält, beseitigt werden. Es ist diese Änderung im Wachstum aus dem Bedürfnisse des Ausläufers nach organischem Material ganz begreiflich; ohne grüne Teile müßte er absterben, er würde sonach für den Zweck der Forterhaltung der Art verloren gehen. Die beigegebenen Skizzen über die diversen Vorkommnisse der Ausläuferverbreitung zeigen deutlich, daß die Quecken nicht so leicht auf einen abgegrenzten Standort zu beschränken sind; sie vermögen von höherem auf niedrigem Niveau gelangen, z. B. von einem Beete auf einen daneben tiefer gelegenen Weg oder in einen flachen Graben und durch diesen auf eine andere Seite. — Das Verhalten der Quecke bei abnormen Lebensverhältnissen und Einwirkungen wurde geprüft in bezug auf die starke Überdeckung der Rhizome mit Erde, der Bodennässe, der Beschattung und vollständigen Lichtentziehung, auf die Wegnahme der oberirdischen Teile, auf starken Wasserverlust, niedere Temperaturen, chemische Mittel. Es zeigte sich, daß die Quecke einseitig der unterirdischen Verbreitung durch Wandersprosse in den obersten Erdschichten angepaßt ist; ausgiebiges Wachstum schon bei niederer Temperatur; Perioden größter Schwächung werden leicht überstanden. In größere Tiefen versetzt, geht sie ein; unter dem Schatten üppig wachsender Pflanzen wird ihre oberirdische Ausbreitung nur eine geringe. — Der Kampf gegen die Quecke klingt in den Worten aus: rationeller Ackerbau läßt das Unkraut nicht aufkommen. Es werden besondere Winke für die Bekämpfung auf nicht bebautem Ackerlande durch Bearbeitung, für den Anbau von Hackfrüchten bzw. stark beschattender Gewächse, für die Niederlegung verqueckten Ackerlandes zur Weide gegeben. Die Mittel zur Bekämpfung bestehen also in Bearbeitungen des unbebauten und bebauten Ackerlandes, anderseits in den Wirkungen der angebauten Gewächse auf die neben ihnen vorhandenen Quecken. — Zum Schlusse folgen noch einige „Nachträge“. *Matouschek* (Wien).

Uvarov, B., Über die Orthopterenfauna Transkaspens. (Horae Societ. Entomol. Russicae. XL. 1912. p. 1—54. 1 Taf.)

Schädiger sind: *Duronia fracta* Kr. subsp. *Kalmyka* Adel. (besonders zahlreich auf Luzernefeldern), *Pachytylus migratorius* L. und *P. domicus* L., *Thisoecretus dorsatus* F. W. (nur das Gestrüpp von *Alhagi camelorum* schädigend), *Liogryllus bimaculatus* Degl. (auf Baumwollfeldern). — Die neuen Arten und Genera, sowie die sonstigen interessanten Daten über die Biologie der Arten müssen wir hier überschlagen. *Matouschek* (Wien).

Mell, R., Bausteine zur Kenntnis der Fauna Südchinas. (Deutsch. entomol. Nationalbibliothek. Bd. 2. p. 139—143, 149—152.)

Verf. befaßt sich besonders mit folgenden Schädlingen (Raupen), deren Biologie er ergänzt:

Acherontia styx Westw. auf *Clerodendron lividum*, *Parum colligata* auf *Broussonetia*, *Marumbas perchius* auf einer *Sterculiacee* (die charakteristischen Freßspuren werden abgebildet), *Chaerocampa suffusa* Walk. auf *Melastoma* (als Schulbeispiel dafür, daß die Häufigkeit eines Tieres nicht von der Häufigkeit der Nährpflanze abhängig ist), *Cephenodes hylas* L. auf *Gardenia florida* in Gärten (mit typischer Fraßfigur), *Cerura liturata* Wlk. befällt *Homalium fagifolium* (Samydacee), aber auch *Populus*.

Die in China die entomologischen Sammlungen und die Züchtereien schädigenden Tachinen, Walzenspinnen, Ameisen, Mäuse usw. werden besprochen.
Matouschek (Wien).

Vimmer, Anton, Ergänzungen zu dem Aufsätze: „Zur Kenntnis von *Phytomyza xylostei* Kltb.“ (Zeitschr. f. wissenschaftl. Insektenbiol. IX. 1913. p. 19—21).

Eine Ergänzung zu dem genannten Aufsätze von Trägårdh (ibidem, 1910. Heft 10): Die Fliege greift die Sträucher von *Lonicera* und *Symphoricarpos* zuerst nur an der Nordseite an, wo immer Schatten ist. Bei Prag, wo das Tier ein Schädling geworden ist, bemerkte Verf., daß es später das Laub an der Schattenseite vorzieht. An sonnigen Stellen findet man die Minen in Blättern seltener. — In den Minen lebten mit jungen Larven der *Phytomyza* die Larven einer *Cecidomyiine*, die man leicht für die Larve der *Phytomyza* halten könnte. Sie ist lang elliptisch, grün und flach, aber durch ihr Tracheensystem und die mit dichten winzigen Börstchen besetzte Oberfläche unterscheidet sie sich ganz leicht von der *Phytomyza*-Larve; außerdem sind deutliche Antennen vorhanden. In larvenlosen Minen lagen oft sehr kleine Puppen eines Vertreters der Hymenopterenfamilie der *Pteromalinae*. — Die *Phytomyza*-Larven können auch die mikroskopischen Pilze vernichten, deren Mycelium im Leibe der Larven und der Puppen zu finden ist. In toten Larven und Puppen trägt das Mycel die Sporen. Sowohl die infizierten Larven als auch die infizierten Puppen haben immer eine unbeschädigte Haut, was beweist, daß die Pilze keine Saprophyten, sondern echte Parasiten sein können.

Matouschek (Wien).

Spuler, Zur Biologie der *Heterogynis penella* Hb. (Entomol. Blätter. XXVI. 1913. p. 182.)

Eine Ergänzung zu den Betrachtungen von Fuchs (l. c.) über das gleiche Thema. Auffällig ist die rasche Entwicklung des Tieres. Im Freien erfolgt das Einspinnen an Blättern der Nährpflanze *Cytisus Laburnum*. Mit den Blättern fällt der Kokon zu Boden und in letzterem verbleibt die Raupe bis zum nächsten Frühjahr. Nur eine Generation ist zu bemerken. Darin sieht Verf. eine Anpassung an das xerotherme Klima. Der Einzug nach Deutschland erfolgte durch die Belforter Pforte.

Matouschek (Wien).

Richter, A., Ohrwurm, Huhn und Getreideungeziefer. (Erfurter Führer i. Obst- u. Gartenb. 1913. p. 332.)

Notizen über den Nutzen von Hühnern im Garten bei der Bekämpfung der Schädlinge und speziell bei der Vertilgung der Ohrwürmer, die Dahlien und Pfirsiche schädigen.

Matouschek (Wien).

Lombardi, D., Alcune osservazioni morfologiche e biologiche intorno alla *Forda formicaria* Heyden. (Rendiconti d. Accad. d. Lincei. Ser. 5. Vol. 21. 1912. I. Sem. p. 809—814.)

Weizen und Hafer wurden 1910 bei Rom von dieser Blattlaus stellenweise beschädigt. Verf. beschreibt die Entwicklungsstadien, die zu 4 ausgewachsenen Formen führen, d. s. virginipare haptere, sexupare geflügelte, virginipare nymphale und geschlechtliche Formen. Die Biologie und die Beziehungen zu Ameisen aus den Gattungen *Tetramorium*, *Crematogaster* und *Myrmica* werden auch geschildert. Die Ameisen bohren kleine Galerien im Boden, wo die Blattlausnymphen ihre Umhütung vollkommen und die Läuse überhaupt während der trocknen Jahreszeit wohnen. Auch retten die Ameisen schnell die Läuse herunter, wenn die Wirtspflanze abgerissen wird. — Die Morwilkosche Synonymie *Fordia formicaria* Heyd. = *Pentaphis (Tychia) trivialis* Pass. ist unstatthaft. Pantanelli (Rom).

Oshanin, B., Katalog der palaearktischen Hemipteren (Heteroptera, Homoptera-Auchenorrhyncha und Psylloidea). 8°. XVI + 187 pp. n. 1 p. Addenda u. Corrigenda des Verf. Berlin (R. Friedländer & Sohn) 1912. Preis: 12 Mk.

Wie Ref. seinerzeit an dieser Stelle bemerkte, hatte leider auch das letzte großangelegte Hemipteren-Katalogwerk das Schicksal seiner Vorgänger. In den Anfängen der Arbeit (wie man angesichts der ungeheuren Artenzahl sagen darf) wurde der Verfasser vom Tode ereilt. Es erscheint sogar zweifelhaft, ob außer den Pentatomiden noch etwas von Kirkaldys hinterlassenen Manuskripten zur Veröffentlichung gelangen wird.

Für die Hemipterologie und damit auch für den Pflanzenpathologen ist es daher von unabsehbarem Werte, vom Verf. des vorliegenden Werkes nun wenigstens die Palaearkten vollständig bearbeitet zu erhalten. Es ist das von so großer Wichtigkeit, daß Ref. sich nur schwer entschließt, dem Bedauern darüber Ausdruck zu geben, daß Verf. von vornherein die Aphiden, Aleurodiden und Cocciden ausschloß. Es wäre wenigstens sehr bequem gewesen, die ja gut bearbeiteten Aleurodiden und Cocciden, selbst wenn letztere nur aus dem Fernaldschen Kataloge ausgezogen worden wären, gleich mit zur Hand zu haben.

Freilich ist bei dem heutigen Stande der Aphidensystematik eine Katalogisierung dieser Gruppe heute sicher für niemanden durchführbar und wohl kaum vor Ablauf eines Dezenniums eine dazu ausreichende Entwicklung unserer Kenntnis zu erwarten.

Immerhin haben wir nun eine vollständige Bearbeitung der gesamten palaearktischen Heteropteren, der gesamten Auchenorrhynchen (*Cicadoidea*, *Fulgoroidea*) und der Sternorrhynchen (*Psylloidea*).

Einzig steht der Katalog da und wird dadurch in viel höherem Maße nutzbar werden (auch außerhalb des engsten Spezialistenkreises), indem er außer dem Index der Gattungen und höheren systematischen Gruppen auch noch einen umfangreichen (p. 131—177) Index sämtlicher Arten und Varietäten unter Einschluß sämtlicher Synonyme enthält. Ein solcher Index fehlte ja leider auch dem Putonschen Kataloge.

Dem Verlage ist die Wissenschaft dafür, daß er die ausgezeichnete und eminent wichtige Arbeit durch mäßige Preisstellung weiteren Kreisen zugänglich machte, zu nicht geringem Dank verpflichtet. Hervorzuheben ist die gerade bei Katalogwerken sehr ins Gewicht fallende typographische Ausstattung. Der Druck ist ganz besonders übersichtlich und klar.

Wolff (Bromberg).

Buchner, P., Zur Kenntnis der Aleurodes-Symbionten. (Sitzungsber. d. Gesellsch. f. Morphol. u. Physiol. in München. Bd. 28. 1912. [1913]. p. 39—44.)

Die Infektionsweisen der Hemipterensymbionten (Hefepilze) sind folgende: Zumeist ist der Ort der Infektion des Eies durch die Pilze des Muttertieres das Hinterende. Nur bei einem Teil der Cocciden drängen die Pilze an der Stelle ins Ei, an der später die Mikropyle entsteht. Bewohnten die Pilze bestimmte Zellen oder gar komplizierte Organe des Muttertieres, so verließen sie diese vorher, trieben in der Lymphe an die betreffenden Stellen des Follikels und traten nun hier entweder in kontinuierlichem Zuge unmittelbar ins Ei ein oder stauten sich vorher in den Follikelzellen, um dann mehr plötzlich in großer Zahl ins Ei-plasma zu dringen, das dadurch zu einer bruchsackartigen Einstülpung veranlaßt wird. Anders ist aber die Infektionsart bei den Aleurodes-Arten. Hier infizieren nicht die aus den Mycetocyten des Muttertieres ausgetretenen Individuen, sondern die ganzen Mycetocyten. Letztere liegen bei der ♀ Imago überall zwischen den dicht aneinander gepreßten Eiröhren zerstreut. Wie sie dorthin gelangen, wird später mitgeteilt werden. Sie enthalten einen gesunden Kern und eine relativ geringe Zahl rundlicher Pilze, die so gedrängt sind, daß das Protoplasma der Wirtszelle fast bis zur Unkenntlichkeit reduziert und demorphiert wird. Bei den Aleurodes-Arten ist vor der Infektion die Oozyte am Hinterrande dünn und lang ausgezogen; das sie überziehende Follikel-epithel wird aber so stark ausgezogen, daß eine Zahl von Mycetocyten hindurchtreten und so eine kolbige Anschwellung verursachen. Da das Ei-plasma sich stark zurückzieht, geht das stielförmige Ende verloren und der Raum, den dieses einnahm, steht jetzt den Pilzzellen zur Verfügung. Es kommt zur Bildung eines Pfropfes von pilzbewohnenden Zellen, der eine Grube im Ei-plasma erzeugt. Der Pfropf schiebt sich allmählich eiförmig ins Ei hinein. Der langgezogene intrafollikuläre Raum, der zuerst von dem Eifortsatz, dann von den Pilzzellen erfüllt war, bleibt bei deren Wanderung erhalten und wird entsprechend zu einem leeren, langen Kanal. Er wird gebogen und am hinteren Ende zu einer Blase erweitert. Die eingewanderten Mycetocyten des Muttertieres gleichen noch ganz den freien, so daß man vor dem Kuriosum steht, im abgelegten Ei neben dem Ovocytenkern 6—8 intakte Gewebszellen und -Kerne zu konstatieren. Beim Ablegen des Eies streckt sich der zusammengekrümmte, chitinös versteifte Infektionskanal und wird zum Eistiele; später gehen jene Mycetocytenkerne zugrunde und werden durch neue Dotterzellen ersetzt. Bei den Psylliden wandern isolierte Pilze (nicht ganze Mycetocyten) ein. Wie hier bei den Aleurodes-Arten und den Psylliden, so bleiben noch viele Fragen bei den Symbionten der Käfer zu lösen. Es steht nach Verf. vorläufig fest, daß bei letzterem Pilze (Hefepilze) in einer bestimmten Region des Mitteldarmes vorkommen (Escherich fand sie bei *Anobium paniceum*). Blochmanns Angabe über Pilze im Darmepithel von *Camponotus* wird bestätigt: Das schon große Ei ist ganz durchsetzt von langen, dünnen, nach allen Richtungen ziehenden Pilzschläuchen, die sich erst später am hinteren Pol konzentrieren.

M a t o u s c h e k (Wien).

Vitzthum, Graf Herm., Die Tetranych Deutschland (Mikrokosmos. Jahrg. 6. 1912/13. p. 99—102, 108—114).

Eine ausführliche biologische und morphologische Darstellung der Schäd-

linge *Tetranych*en (Spinnmilben). Wichtig für ihr Leben ist Wärme und Feuchtigkeit. Auf vertrockneten Blättern von Pflanzen, die im übrigen von Tetranychern befallen sind, findet man daher niemals lebende Tierchen. Das Dasein der Tierchen auf allerlei Blättern bedeutet für diese einen Parasitismus ärgster Art. Treten sie in Masse auf, dann wird Wasser und Chlorophyll in starken Mengen dem Blatte entzogen. Der Dürre, welcher z. B. die Bohnenfelder von Mecklenburg und Holstein im heißen Sommer 1911 unterlagen, arbeiteten die Spinnmilben kräftig vor. Das riesige Auftreten derselben hatte nur zur Folge, daß die Nahrung ausging. Und gerade Trockenheitskatastrophen räumen stets gründlich mit den Schädigern auf. Sie können ja keine Wanderungen vornehmen. Im systematischen Teile betont Verf., daß die verschiedenen Färbungen und Größenunterschiede nur unter verschiedenen Lebensbedingungen erworbene zufällige Eigenschaften sind; sie gruppieren sich, soweit es sich um deutsche Arten handelt, um *Tetranychus telarius*. Sehr wertvoll sind die Angaben über die Darstellung von Dauerpräparaten.

Matouschek (Wien).

Essig, E. O., Aphidae of Southern California. IX. (Pomona College Journ. of Entomol. IV. 1912. p. 698—745.)

Ein Bestimmungsschlüssel der Kalifornischen Arten von *Pemphigus* Hartig. Speziell werden behandelt:

Pemphigus californicus Dav. (auf *Ranunculus californicus* Benth.), *P. populimonilis* Ril. (sehr interessante Gallen auf *Populus trichocarpa* T. et G. erzeugend), *P. populicaulis* Fitch (aber auch auf *Populus monilifera* und *P. tremuloides* Gallen erzeugend).

Ein Gattungsschlüssel des Tribus Chaitophorini wird entworfen:

1. *Chaitophorus* Koch (Typus *Aphis aceris* L.) im Gebiete bisher unbekannt;

2. *Micrellan* n. g. mit *M. monellin* n. sp. (auf *Salix lasiolepis* Benth. u. *S. laevigata* Bebb.);

3. *Eichochaitophorus* n. g. mit *E. populifolii* (auf *Populus trichocarpa* T. et G.);

4. *Symdobius* Mordw. mit *S. macrostachya* n. sp. (auf *Salix macrostachya*) und *S. salicicortis* n. sp. (auf *Salix laevigata*);

5. *Fullawaya* n. g. mit *F. saliciradicis* n. sp. (auf *Salix*-Arten);

6. *Thomasia* Wils. mit *T. populifoliae* (Fitch) auf *Populus fremonti* Wats., *T. populicola* (Thos.) Wils. (auf *Populus trichocarpa* T. et G.), *T. negundinis* (Thos.) auf *Negundo aceroides* Mch., *T. viminalis* (Mon.) auf *Salix* sp., *T. salicicola* Ess. auf *Salix laevigata* und *Populus trichocarpa* T. et G., *T. crucis* Ess. auf *Salix macrostachya* Nutt.;

7 und 8. *Arctaphis* Wlk. (Typus *Aphis populi* L.) und *Sipha* Pass. (Typus *Aphis glyceriae* Kalt.) wurden im Gebiete noch nicht gefunden.

Matouschek (Wien).

Essig, E. O., Aphidae of Southern California. X. (Pomona College Journ. of Entomol. IV. 1912. p. 758—797.)

Es werden monographisch behandelt:

Tribus: Callipterini mit 10 Gattungen, speziell *Myzocallisalni* (Fabr.) Pass., *Monellia californicus* n. sp. (Wild walnut Plant Louse, wobei der Unterschied gegenüber *M. caryae* Mon. angegeben wird), ferner der Tribus: Lachnini, speziell *Tuberolachnus viminalis* (B. de Fonsc.) Mordw., *Essigella californicus* (Ess.) Del Guercio, und endlich Tribus: Pterocommini mit *Melanoxantherium rufulus* Dav., *Aphis maidis* Fitch und *Rhopalosiphum nymphaeae* Lin.

Die Bestimmungsschlüssel der Gattungen und Arten sind genau ausgearbeitet worden.

Matouschek (Wien).

Phillips, W. J., and Davis, J. J., Studies on a new Species of *Toxoptera* (U. S. Dep. of Agr. Bur. of Ent. Techn. Ser. No. 25. P. 1. 1 Taf.).

Auf der dikotylen *Mühlenbergia* sp. in Ohio und N.-Indiana lebt die Blattlaus *Toxoptera Mühlenbergia*, deren Entwicklungsgeschichte vom Verf. studiert wurde. Bestimmungstabelle der 8 Arten der Gattung *Toxoptera*. Angaben über die künstliche Aufzucht der Blattläuse an der natürlichen Nährpflanze unter Abschluß eines windlichtartigen, oben mit Organtin verbundenen Glaszylinders zum Studium der Generationenfolge. Tabellarisches Aufzuchtalendarium vom März bis Oktober. **Matouschek** (Wien).

Bier, A., Ein blutlausähnlicher Schädling unserer Topfpflanzen. (Erfurter Führ. i. Obst- u. Gartenb. Bd. 13. 1913. p. 348.)

Die Schmierlaus (*Dactylopius*) tritt oft auf. Diverse Angaben über die Bekämpfung des Insekts werden gemacht. **Matouschek** (Wien).

Essig, E. O., Host Index to California Plant Lices. II. (*Aphidae*). (Pomona College Journ. of Entomol. Vol. 4. 1912. p. 826—828.)

Eine Ergänzung zum ersten Teile der Arbeit (l. c. III. p. 457—469). — Es werden die auf diversen Pflanzen als Schädlinge auftretenden Aphididen in geordneter Übersicht aufgezählt, wobei die Fundorte notiert sind.

Matouschek (Wien).

Van der Goot, P., Zur Systematik der Aphiden. (Tijdschr. Entomol. 56. 1913. p. 69—155, m. 19 Figg.)

Die Blattläuse sind immer noch das Stiefkind der Entomologie. Noch steht eine moderne Bearbeitung der ganzen Familie aus, so vorzügliche Bearbeitungen einzelner Gruppen auch vorliegen. Zu einer solch modernen Bearbeitung sucht **van der Goot** hier die Grundlage zu geben. Er teilt die Familie der Aphiden ein in zwei Unterfamilien: *Aphidinae* und *Chermesinae*, erstere weiter in zwölf, letztere in zwei Tribus. Diese einzelnen Gruppen werden mit ihren Gattungen genau durchgesprochen und für sie alle gute Definitionen nach mikroskopischen Merkmalen gegeben. Hierbei erfährt die ganze Gattungsbenennung eine Umstürzung; nur ganz wenige Gattungen bleiben in ihrer alten Bedeutung erhalten; die meisten erfahren ganz andere Begrenzung und ganz anderen Arteninhalt wie seither; dazu werden zahlreiche neue Gattungen geschaffen. Den Schluß bilden eine übersichtliche Darstellung des neuen Systems und Bestimmungstabellen bis zu den Gattungen herab. — Dieser Versuch bedeutet eine förmliche Revolution unserer seitherigen Blattlaussystematik, die zweifellos auf gründlichem Studium, allerdings nur der holländischen, Blattläuse beruht. Wie weit er sich bewährt, kann natürlich erst die Zukunft lehren; höchst beachtenswert ist er aber auf jeden Fall. — Das Verständnis der Arbeit wird etwas durch das allzu holländische Deutsch gestört. **Reh** (Hamburg).

Green, E. Ernest, Remarks on Coccidae collected by Mr. Edward Jacobson of Samarang, Java. (Tidschr. voor Entomol. 1912. p. 311—317. W. 2 pls.)

Lecanium opimum n. sp. wurde auf *Cassia fistula* L.

gefunden, *L. discrepans* Green auf *Sesbania aegyptiaca* Pers., *Tachardia aurantiaca* Cock. auf *Flacourtia* und *Albizzia* (bisher nur auf *Citrus* bekannt), *Dactylopius* (*Pseudococcus*) *citri* Risso auf *Loranthus* sp., *Lecanium* (*Saissetia*) *hemisphaericum* Targ. auf *Loranthus* und *Flacourtia* Ramontchi, *Jcerya* *Jacobsoni* auf *Dombeya acutangula* Cav. Matouschek (Wien).

Boldyrev, B. Th., *Tachycines asynamorus* Adel. a *Periplaneta australasiae* Fbr. v. oranzerejach Moskvi. [= *T. as. et Per. austr.* in den Warmhäusern von Moskau]. (Rev. Russ. Entom. St. Petersburg. T. XI. 1912. p. 437—443.) [Russisch.]

Die genannten Orthopteren sind in die Warmhäuser von Moskau und anderer Städte aus den Tropen eingeschleppt worden und sind hier Schädiger. Die Lebensgewohnheiten beider Arten werden erläutert.

Matouschek (Wien).

de Man, J. G., Helminthologische Beiträge. I. *Diplogasteroides spengelii* n. g. n. sp., eine in dem durch *Torula monilioides* Corda (usw.) verursachten braunen Fluß der gemeinen Roßkastanie lebende Anguillulide. II. Über *Mononchus muscorum* (Duj.) und dessen Vorkommen im schwarzen Pilz-Algenfluß der Buche, *Fagussilvatica* L. III. Zur Kenntnis der Gattung *Dorylaimus* Duj. (Zoolog. Jahrb. Suppl. XV. Bd. 1. [Festschr. z. 60. Geburtstag d. Herrn Joh. Wilh. Spengel.] 1912. p. 439—464. Taf. 22 u. 23.)

Die neue Gattung *Diplogasteroides* weicht von *Diplogaster* M. Schultze durch die Mundhöhle ab, die zylindrisch ist, länger als weit, mit Chitinwand versehen und an deren Boden in der dorsalen Medianlinie ein so außerordentlich kleines Zähnchen steht, daß es selbst bei stärkster Vergrößerung nur eben erkennbar ist, sonst stimmt sie mit der Gattung *Diplogaster* in fast allen Merkmalen überein. Gerade durch die Mundhöhle erinnert sie an die Gattung *Rhabditis* Duj., die Mundhöhle ist aber bei dieser dreiseitig, während sie bei der neuen Gattung zylindrisch erscheint und bei ihr ein Klappenapparat im hinteren Bulbus und eine Bursa beim Männchen fehlt. Die interessante neue Anguillulide, die Verf. zu Ehren des Herausgebers der zool. Jahrbücher *Diplogasteroides spengelii* benannte, erhielt Verf. vom Referenten aus dem braunen Torulafluß der Roßkastanien um Greiz, in den sie das häufigste Älchen ist (ebenso wie in den Torulaflüssen der Ulmen, Ahorne usw.).

Die zweite Art *Mononchus muscorum* (Duj.) erhielt Verf. mit 10 anderen in dem schwarzen Pilz-Algenfluß Fluß von *Fagus silvatica* lebenden Anguilluliden gleichfalls vom Referenten aus Greiz. Eine Bearbeitung der übrigen Arten behält sich Verf. für später vor. *M. muscorum* (Duj.) wurde von F. Dujardin 1845 als *Oncholaimus muscorum* Duj. beschrieben, sie gehört aber, wie schon H. Ch. Bastian 1865 erkannte, zu der von diesem aufgestellten Gattung *Mononchus* Bast. Diese Gattung ist in Europa durch 10 Arten und eine Var. vertreten, während außerdem 12 außer-

europäische Arten bekannt sind. Unter den europäischen Vertretern unterscheidet sich der *Mononchus fovearum* (Duj.) und *M. tridentatus* de Man durch die Anwesenheit von 3 Zähnen in der Mundhöhle auf den ersten Blick von *M. muscorum*, während *M. truncatus* Bast., *M. macrostoma* Bast. mit der Var. *armata* Daday und *M. tunbridgensis* Bast. durch den schlankeren Schwanz abweichen, dessen hintere Hälfte fadenförmig erscheint. Durch quergestreifte Mundhöhle, noch kürzeren Schwanz und geringere Größe unterscheidet sich *M. brachyuris* Bütschli, durch den an der dorsalen Seite mit Kamm versehenen Schwanz *M. cristatus* Bast., durch zugespitzten Schwanz und andere Merkmale *M. papillatus* Bast. und *M. parvus* de Man. Unter den außereuropäischen Arten scheint *M. gerlachii* de Man aus dem antarktischen Gebiet (auf Süßwasseralgen des Danco-landes) am meisten zu ähneln. Der *M. muscorum* unterscheidet sich sogleich von diesem wie von allen europäischen Arten durch zwei durch einen engen Zwischenraum getrennte gezähnte Längskanten, die an jeder der ventralen Medianlinie der Mundhöhle in der Höhe dieser Linie verlaufen. *M. muscorum* wurde noch in Paris und (1888) in Jena in Moosrasen gefunden.

Von *Dorylaimus* beschreibt Verf. *Dorylaimus silvester* n. sp. aus mit Anemone und Gras bewachsener Walderde bei Breda, *D. macrodorus* de Man (mit *Tylolaimophorus typicus* de Man in sandiger mit Moos bedeckter Erde bei Breda), *D. spengelii* n. sp. (zwischen Erikawurzeln in Sanderde eines Nadelwaldes bei Bergen op Zoom), *D. oxycephalus* de Man vom Standort des *D. macrodorus* und aus feuchter Erde vom Großen Ettersberg bei Weimar.

F. Ludwig (Greiz).

Back, E. A., Notes on Cuban White-Flies with Description of two new Species. (The Canadian Entomolog. Vol. 44. 1912. p. 145—153.)

Folgende *Aleyrodes*-Arten fand Verf. bisher auf Cuba:

Aleyrodes floridensis Quaint. (auf *Psidium*); *A. mori* Quaint. (ebenda); *A. perseae* Quaint. (ebenda); *Aleurodicus cardini* n. sp. (auf *Psidium guajava* radii); *Aleyrodes trachoides* n. sp. (auf *Solanum sea-phorthianum* Andr.); ferner die häufigeren *Aleyrodes citri* Ril. et How. (the Citrus white-fly), *A. nubifera* Berg. (the cloudy-winged white-fly) und *A. howardi* Quaint. (the wooly white-fly).

Matouschek (Wien).

Johansson, K. L., Über *Merodon equestris*. (Meddel. af Soc. pro faun. et flora Fenn. 38. H. 1912. p. 209.)

Diese Diptere wurde mit importierten Zwiebeln nach Finnland eingeführt.

Matouschek (Wien).

Rudow, Afterraupen der Blattwespen und ihre Entwicklung. (Entomolog. Rundschau. Jahrg. 28. 1911. Jahrg. 29. 1912.)

Eine sehr genaue Beschreibung aller in Mitteleuropa und speziell in Deutschland gefundenen Afterraupen und des Schadens, den sie auf den Nährpflanzen hervorbringen. Die letzteren sind:

Diverse Obstbaumarten (Kirschen und Pflaumen), viele Laubbäume und Sträucher (besonders Eiche, Erle, Birke, Weißdorn, Rosen), *Ranunculaceen*, *Umbelliferen*, *Rosaceen*, *Cruciferen*, *Lythrum*, *Succisa*, Lippenblütler, Rachenblütler, *Rumex*, *Polygonum*, *Liliaceen*, *Iris*, *Pteris* und *Polypodium*. Manche Arten sind aus Gallen gezogen worden. Die vielen Details möge man in der Originalarbeit nachsehen.

Matouschek (Wien).

Krausse, A. H., Heuschrecken auf Sardinien. (Zeitschr. f. wissensch. Insektenbiol. Jg. 8. 1912. p. 323—326.)

Historische Daten über „Heuschreckenjahre“ auf dieser Insel. — Die Campidano-Ebene scheint oft der Brutplatz dieser Schädlinge zu sein. In der Provinz Cagliari traten sie 1909 stark auf. Trotzdem war die Ernte eine gute. Von 3593 Arbeitern wurden in 96 Tagen 139 244 kg Larven von (zumeist) *Stauronotus maroccanus* gesammelt. Da das Getreide schon vordem aufgeschossen hat, waren zum Glück die Blätter für die Larven zu hart. Verf. zählt auch die anderen Heuschreckenarten auf. Erwachsene Tiere zu fangen hat wenig Sinn. Matouschek (Wien).

Ramme, Über die japanische Locustide Diestrammena marmorata Br. (Berliner entomolog. Ztg. Bd. 57. 1912. p. 25.)

In einem Gewächshause zu Naumburg fand sich diese eingeschleppte Art in größerer Menge. Sie fraß nicht nur diverse Pflanzen, sondern auch Speck. Matouschek (Wien).

Hunter, W. D., Two destructive Texas Ants. (U. S. Dep. of Agric. Bur. of Ent. Circ. 148. 1912.)

Atta texana Buckl. und *Pogonomyrmex barbatus molefaciens* Buckl. (Ameisen) schädigen sehr. Bekämpfung: Eingießen von wässriger Cyankalilösung, Schwefelkohlenstoff in die Nester, oder Ausschwefeln und das Aufstellen von Köderfallen.

Matouschek (Wien).

Howard, L. O., Die Siebzehnjahr-Zikade. (Die Umschau. XVI. 1912. p. 28—32.)

In den Nordstaaten der Union pflegt dieses Insekt regelmäßig alle 17 Jahre, in den Südstaaten alle 13 Jahre zu erscheinen und zwar oft in so kolossaler Anzahl, daß die Luft einige Wochen lang ganz erfüllt ist von ihrem laut schallenden Gezirp. Nach der oben genannten Wiederkehr unterscheidet man 2 Arten von Zikaden. 1911 erschienen beide zugleich. Es zeigte sich, daß die vorjährige Individuenzahl beider vielfach weit weniger ansehnlich ausgefallen ist als jene der früheren Jahre. Der Grund mag in dem stärkeren Auftreten der englischen Sperlinge zu suchen sein. Die Vollkerfe erzeugen keinen Schaden, die Weibchen legen aber in Menge unter die Rinde in den saftigen Splintteil ihre Eier. Die belegten Zweige sterben ab. Baumringe zur Verhütung des Emporkriechens der Vollkerfe nützen. Die Larven kriechen rasch in die Erde, wo sie (wie auch die Puppe dort) den Wurzeln keinen Schaden zufügen. Erst im Frühjahr des 17. Jahres vollzieht sich endlich ihre letzte Häutung. Die Puppe kriecht unter dem Einflusse unnatürlicher Verhältnisse (zu zeitiges Auftreten von Wärme oder zu großer Feuchtigkeit) mitunter aus der Erde hervor, um eigenartige turmförmige Bauten zu errichten. Während die Eier oft durch diverse Parasiten (auch Milben) leiden, vernichtet die Grabwespe *Sphecius speciosus* Larven und Puppen. Kommen letztere empor, so kann man die Erde mit irgendeiner chemischen Lösung bespritzen, wodurch sie zugrunde gehen. Im ganzen genommen ist der angerichtete Schaden dieser vom Volke gefürchteten Zikadenart nicht sehr groß. Matouschek (Wien).

Sulc, Karl, Monographia generis *Trioza* Foerster. Species regionis palaearcticae. Pars I. No. 1—10.

10 Tafeln. (Sitzungsber. d. kgl. böhm. Gesellsch. d. Wissensch., math.-nat. Kl. 1910. Prag 1911. St. 17. p. 1—34.)

Folgende Arten der Gattung *Trioxa* (Psylloden, Rhynchoten) werden nach jeder Richtung hin sehr genau beschrieben:

Trioxa urticae L. (auf *Urtica urens* und *dioica*, ganz Europa); *Tr. acutipennis* Zett. 1828 (auf *Alchemilla vulgaris*, Mittel- und Nordeuropa); *Tr. albiventris* Foerst.-Fl. 1848 (auf diversen *Salix*-Arten, ganz Europa); *Tr. rhamni* Schr. 1801 (auf *Rhamnus cathartica*, England, Mitteleuropa, Rußland); *Tr. galii* Foerst.-Fl. 1848 (auf 5 *Galium*-Arten, ganz Europa); *Tr. binotata* Loew 1883 (auf *Hippophaë rhamnoides*, nur aus dem Stubaitale in Tirol bekannt); *Tr. cerastii* H. Loew 1847 (Rußland, Mitteleuropa, auf *Cerastium triviale* und *semidecandrum*); *Tr. nigricornis* Flor 1861 (Nährpflanze unbekannt; Nord- und Mitteleuropa, Sibirien, Transkaukasien); *Tr. agrophila* Loew 1888 (auf *Cirsium arvense*, wohl recht häufig); *Tr. viridula* Zett. 1828 (*Daucus*, *Petroselinum sativum*, *Cerrefolium silvestre*; Rußland, Kaukasus, auch Rumänien, Italien, Mitteleuropa). — Die Tafeln zeigen Details. — Auf Fundorte in Böhmen wird besonders Rücksicht genommen.

Matouschek (Wien).

Schirmer, C. und Schumacher, F., Beiträge zur Kenntnis der Rhynchotenfauna Deutschlands. [Hemiptera.] III. (Deutsch. entomol. Zeitschr. 1911. p. 671—680.)

Größere Seltenheiten werden in diesem Beitrage zu einem Verzeichnisse der Rhynchoten der Umgebung Berlins speziell der Buckower Gegend mitgeteilt, darunter eine Anzahl von Schädlingen auf Bäumen und krautigen Pflanzen.

Matouschek (Wien).

Strohmeyer, Dreizehn neue Arten der afrikanischen Platypodiden-Gattung *Periomnatus* Chap. (Entomolog. Blätt. 1912. p. 17—28.)

Obige Gattung ist 1865 von Chapuis durch Auffindung eines Exemplares aufgestellt worden.

Verf. unterscheidet 2 Gruppen, eine mit schrägem, ungleich abgestutzten und stärker bezahnten Absturz, die *longicollis*-Gruppe, die andere mit fast senkrechtem Absturz, schwacher Bezahnung und gedrungenerem Bau, die *inermis*-Gruppe. Den Übergang zwischen beiden Abteilungen bildet *P. signatus*. Mit Ausnahme von *signatus* haben alle Weibchen der ersten Gruppe in den Maxillarläden mehr oder weniger lange Tastborsten, die sich zwischen den Mandibeln durchschieben und als flaches Bündel der Stirn aufliegen, manchmal sogar bis zum Scheitel reichen.

Die Weibchen der *inermis*-Gruppe haben nur kurze Tastborsten an den Maxillarläden und keinen Strichfleck am Halsschild. Verf. hat zur Zeit nur eine Bestimmungstabelle für Männchen ausgearbeitet, da die Unterscheidung der Arten nach weiblichen Käfern nicht leicht ist. Er bringt eine Tafel und 11 Abbildungen im Text in sehr guter Ausführung und beschreibt ausführlich

Periomnatus bispinus, *major*, *nekurii*, *camerunus*, *similis*, *excisus*, *substriatus*, *nitidicollis*, *gracilis*, *piceus*, *signatus*, *Severini*, *inermis*.

Zum Schluß wird die Bestimmungstabelle der bekannten Arten angeführt.

Kirchner (Halle).

Strohmeyer, Neue Platypodiden aus Deutsch-Ostafrika, Kamerun und Französisch-Kongo. (Entomolog. Blätter. 1912. p. 78—86.)

Beschrieben werden:

Mesoplatypus nov. genus als eigentümliche Mittelform zwischen *Platypus* und *Crossotarsus*; eine sehr große, breit ovale, unsymmetrische, schief angesetzte Fühlerkeule als besonderes Charakteristikum. *Mesoplatypus grandiclava*, Standort Französ.-Kongo. *Cylindropalpus affinis* nov. spec., Standort West-Usambara. *Crossotarsus spinulosus* nov. spec., Standort Kamerun, Deutsch-Ostafrika, Französ.-Kongo. *C. Schenklingi* nov. spec., Standort Kamerun. *C. rufescens* nov. spec., Standort Kamerun. *C. impressus* nov. spec., Standort Ostafrika. *C. angustatus* nov. spec., Standort Kamerun, Deutsch-Ostafrika am Mkulusumi-Berg. Holzart: Uarab. *Cr. castaneus* nov. spec. Standort West-Usambara. *Cr. flavescens* nov. spec., Standort Deutsch-Ostafrika, Mkulusumi-Berg u. West-Usambara. *Karasek* leg. *Cr. tenuis* nov. spec., Standort Mkulusumi-Berg, Deutsch-Ostafrika.

A. Kirchner (Halle a. S.).

Wichmann, Beschreibung der Freßbilder von *Taphro-rychus hirtellus* Eichh. (Entomolog. Blätter. 1912. p. 138—140.)

Eine sehr wenig bekannte Borkenkäferart, gefunden in der Umgebung von Belgrad und Nordbosnien. Die Gänge entsprechen denen des *Taphr. bicolor* sind aber kleiner. Verlauf unter der Rinde unregelmäßig als fünf-armige Längssterngänge, ganz unregelmäßiger bis dendritischer Form, mit Neigung die Längsrichtung einzuhalten. Von einer Rammelkammer laufen die irregulären schwach gewundenen oder leicht geknickten Gänge aus, die sich fast nie verzweigen, öfter aber sterile Zapfen aussenden. Die Breite der Gänge wechselt sehr, an den Außenseiten der Muttergänge findet man spärliche Einischen, deren Vorhandensein schwer erkennbar ist. Im Gegensatz zu den nur schwach den Splint angreifenden Muttergängen, finden sich auch scharf und tief in das Holz genagte Gänge, die vielleicht einem Ernährungs-fraß des ♂ ihre Entstehung verdanken. In Kammer und Gängen finden sich häufiger napfartige Vertiefungen. Die Puppenwiegen liegen zwischen Rinde und Holz ohne Spuren zu hinterlassen. Die Jungkäfer entschlüpfen im Herbst, führen einen undeutlichen Nachfraß aus und bohren sich im März durch. Der Käfer bebrütet abgestorbenes Material.

A. Kirchner (Halle a. S.).

Webb, J. L., A preliminary Synopsis of cerambycoid Larvae. (U. S. Dep. of Agric. Bur. of Ent. Techn. Ser. No. 20. P. 5).

Dichotomische Bestimmungstabelle der Larven von 46 Bockkäfergattungen. Das Genus *Atimia* wird zu der Familie der Asemidae (nicht zu der der Cerambycidae) gezogen. Matouschek (Wien).

Klimesch, Beiträge zur Kenntnis der Gattung *Trypophloeus* Fairm. (*Glyptoderes* Eichh.). (Entomol. Blätter. 1913. p. 105—116.)

Verf. unterzieht die Hagedorn'sche „Revision unserer Pappelborkenkäfer“ einer erneuten Revision und kommt auf Grund seiner Untersuchungen zu folgenden Ergebnissen:

1. Zwischen *Trypophloeus asperatus* und *Grothi* gibt es keine konstanten äußerlichen Skulpturunterschiede.

2. Die konstatierten Färbungsunterschiede sind bedingt durch die mehr oder weniger weit fortgeschrittene Entwicklung (Ausfärbung) der einzelnen Tiere.

3. Auf Grund dieser Tatsachen hätte Dr. Hagedorn zu einer Differentialdiagnose der näheren Verwandtschaft wegen nicht *granulatus*,

sondern *asperatus* zum Vergleich mit seinem *Grothi* heranziehen sollen.

Als Endresultat sagt Verf., die Beschreibung des *Cr. Grothi* ist ungültig,

1. weil sie als absolute Diagnose nicht eindeutig ist. Sie gilt in gleicher Weise für ausgefärbte Exemplare von *Tr. granulatus* Ratz, *asperatus* Gyll und *Grothi* Haged.

2. Weil bei Durchführung der Differentialdiagnose nicht das nächstverwandte Tier (*asperatus* Gyll.) zum Vergleiche herangezogen worden ist.

Nach den Regeln der zoologischen Nomenklatur ist *Cryphalus Grothi* Hagedorn zu annullieren. Eine Neubeschreibung ist nicht nötig, da durch die Untersuchungen die Identität mit ausgefärbten Exemplaren von *Trypophloeus asperatus* Gyll. dargetan ist. Dasselbe gilt für *Cryphalus granulatus* var. *Tredlii* Hagedorn, identisch mit ausgefärbten Exemplaren von *Trypophloeus granulatus* Ratz.

Kirchner (Halle a. S.).

Reh, Schaden durch den Gartenlaubkäfer. (Der prakt. Ratgeb. i. Obst- u. Gartenb. 1912. p. 421—422.)

Phyllopertha horticola wird beschrieben, sowie dessen Larve. Die Bekämpfung ist die gleiche wie beim Maikäfer.

Matouschek (Wien).

Mitterberger, K., Die Arten der Gattung *Argyresthia* Hb. (Mikrolepidoptere) um Steyr in O.-Österreich und im angrenzenden Teile von Steiermark. (Entomolog. Zeitschr. XXVI. 1912. No. 28—39. Mit Fig.)

Die Beschreibung der vielen gefundenen Arten, deren Räumchen in Nadeln, Knospen und anderen Organen folgender Pflanzen vorkommen und da mitunter einen Schaden erzeugen können: Pinus-Arten, Fichte, Tanne, Wacholder, Eiche, Birke, Weide (in Blütenkätzchen), Grünerle, *Cornus*, Weißdorn, Apfelbaum, *Amelanchier*, *Sorbus aria* usw. Die geographische Verbreitung und besonders die Lebensweise der einzelnen Arten bringen vieles Neue. *Argyresthia laevigatella* H. S. als Schädling der Lärche wird besonders eingehend besprochen.

Matouschek (Wien).

Martini, W., Raupe und Mine der *Elachista subocella* Stph. (Entomolog. Zeitschr. XXVI. 1913. p. 163.)

Die Raupe lebt in *Brachypodium pinnatum* an ganz freien Stellen. Bewohnte Minen lieferten Mitte oder Ende Juni den Schmetterling. Die Raupe wird genau beschrieben; sie miniert zuerst fein neptacula-artig aufwärts, später abwärts. Nun wird die Mine aufgetrieben, aber nur sehr wenig entfärbt, so daß sie schwer aufzufinden ist. Größe der Mine 5,5—8 cm. Verpuppung erfolgt in lockerem Gespinnste. Matouschek (Wien).

Schneider-Orelli, O., Über Schwammspinner und Goldafter mit besonderer Berücksichtigung nordamerikanischer Bekämpfungsversuche gegen diese Obstbaumschädlinge. (Schweizer. Zeitschr. f. Obst- u. Weinb. 1913. p. 18—22, 38—41, m. Fig.)

Vortreffliche Beschreibungen und Abbildungen der beiden Schädlinge. Bei uns werden die Raupennester abgeschnitten; die Eihäufchen des Schwammspinners werden vernichtet. In der Union legt man Gewicht auf

die Einführung und künstliche Verbreitung der natürlichen Feinde (Schlupfwespen, Raupenfliegen). Und diese Verhältnisse erläutern die Verff.

M a t o u s c h e k (Wien).

Standfuß, M., Einige Mitteilungen über paläarktische Noctuiden. (Mitt. d. schweiz. entomolog. Gesellsch. Bd. 12. 1912. p. 69.)

Das Raupen- und das Puppenstadium von *Leucania andereggii* B. waren bisher nicht bekannt. Es gelang dann aber dem Verf., im Oberengadin, bei 2000 m ü. M., Raupen dieser Noctuiden-Art an *Briza media* L. var. *major* Peterm., sowie vereinzelte Exemplare an *Deschampsia caespitosa* Pal. und *Dactylis glomerata* L. aufzufinden. Die überwinterten Puppen kamen dann teils in eine mittlere Versuchstemperatur von 22,5° C, teils zu 14° C und andere schließlich zu 4,3—14,2° C. Diese Temperaturexperimente ergaben insofern ein sehr interessantes Resultat, als die erste Gruppe Falter von der hellen Grundform *Leucania andereggii* lieferte; bei der mittleren Versuchstemperatur entstand *Leucania andereggii* ab. *cinis* Frr (mit bräunlicher Grundfarbe) und die kühl aufbewahrten Puppen (mildes Kälteexperiment) lieferten Falter mit Querbinden auf der Oberseite der Vorderflügel, die zu *Leucania andereggii* ab. *engadinensis* Mill. gehörten.

Diese Versuche beweisen, „daß wir in den verschiedenen Falterformen der *Leucania andereggii* aus dem Oberengadin Temperaturformen vor uns haben, wobei das feine Reagieren des sensiblen Stadiums der Puppenphase selbst auf relativ geringe Temperaturunterschiede sehr bemerkenswert erscheint. Bei reichem Puppenmaterial dürfte es möglich sein, mit methodisch durchgeführten Temperaturexperimenten eine lückenlose Reihe aller der verschiedenen Falterformen dieser interessanten Art zu erhalten. Bei der Oberengadiner Form unserer *Leucania* ist mithin weder die Grundform *andereggii*, noch deren ab. *cinis*, noch ab. *engadinensis* erblich festgelegt. Erblich festgelegt ist nur die Fähigkeit, auf gewisse, das sensible Stadium der Puppe treffende Temperaturen mit dem Kleide der Grundform, auf andere Temperaturen mit dem Faltergewande der ab. *cinis*, auf wieder andere mit dem Kostüm der ab. *engadinensis* zu antworten“. Doch hält es Verf. für nicht ausgeschlossen, daß es auch Fluggebiete geben kann, wo sich z. B. die Grundform oder ab. *engadinensis* als erblich fixierter Typus vorfindet.

Andere Abschnitte der Arbeit befassen sich mit der Raupe von *Leucania comma* L. und mit einer neuen Noctuiden-Art, *Taenio-campa puengeleri* Stdls., welche in Algerien (Les Glacières bei Blidah) erbeutet wurde. Eine vorzügliche Lichtdrucktafel mit 21 Einzelfiguren veranschaulicht die behandelten Formen.

O. Schneider-Orelli (Wädenswil).

König, Besonderheiten des ostpreußischen Waldes in bezug auf Standort, Bestockung und forstliches Verhalten einzelner Holzarten. (Ber. ü. d. 12. Hauptversamml. d. Deutsch. Forstver. zu Königsberg. XII. p. 21—44.) Berlin (Springer) 1912.

Geschichtliche Daten über das Auftreten der Nonne in Ostpreußen. Die anderen Schilderungen betreffen die Flora und Forsttechnik.

M a t o u s c h e k (Wien).

Meisenheimer, J., Die Weinbergschnecke *Helix pomatia* L. (Monographien einheimischer Tiere. Bd. 4.) Leipzig 1912.

In streng wissenschaftlicher, aber trotzdem leicht verständlicher Darstellung behandelt die Arbeit folgende Punkte: Die Präparation, die äußere Körperhaut, Schale und Epiphragma, die bindegewebigen und muskulösen Komplexe im Innern des Körpers, Nervensystem, Sinnesorgane, Ernährungsorgane, die Organe des Blutkreislaufes und der Atmung, das Exkretionsorgan, die Geschlechtsorgane und ihre Betätigung, Embryonalentwicklung, Verhältnis der Weinbergschnecke zur umgebenden Natur und zum Menschen und schließlich folgt noch Systematisches. Von pflanzenpathologischem Interesse ist hauptsächlich das zweitletzte Kapitel.

Schneider-Orelli (Wädenswil).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Hager-Mez, Das Mikroskop und seine Anwendung. Handbuch der praktischen Mikroskopie und Anleitung zu mikroskopischen Untersuchungen. In Gemeinschaft mit O. Appel, E. Brandes, P. Lindner u. Th. Lochte neu herausgeg. von C. Mez. 11. umgearb. Aufl. XII + 375 pp. m. 471 Fig. i. Text. Berlin (J. Springer) 1912. Geb. M 10,—.

Die 11. Auflage des altbewährten Werkes stellt speziell für die Leser aus den Kreisen der Gärungsphysiologen, Mykologen und Pflanzenpathologen eine völlige Neubearbeitung des Stoffes dar. Aus der Feder Lindners, der nun in den Stab der Mitarbeiter eingetreten ist, stammt eine vortreffliche Darstellung der Schimmel- und Hefepilze. Appel hat wieder eine so umfassende und klare Darstellung der Pflanzenkrankheiten gegeben, daß man das Buch geradezu als vorzügliche Einführung in ihr Studium empfehlen kann.

Auch die Abwässerorganismen sind in einer für praktische Untersuchungen völlig genügenden Weise behandelt.

Die durch Tiere hervorgerufenen Pflanzenkrankheiten sind nur in einer kleinen Auswahl berücksichtigt worden; im wesentlichen handelt es sich um diejenigen Krankheiten, deren Erreger mikroskopisch kleine Organismen sind: Nematoden, Milben, ferner um einige Beispiele von Schädlingen aus den Ordnungen der Hemipteren, Thysanopteren und Dipteren.

Wolff (Bromberg-Schröttersdorf).

Pringsheim, Ernst G., Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen. I. (Beitr. z. Biol. d. Pflanz. Bd. XI. 1912. p. 305—332, m. 2 Taf.)

Die vom Verf. angegebenen Methoden zur Herstellung von Reinkulturen chlorophyllhaltiger Mikroorganismen überhaupt werden auch den Bakteriologen interessieren: Die Grundlage bildete das Kochsche Plattenverfahren. Als Nährboden wurde 1—2-proz. Agar-Agar mit nur wenig Mineralsalzen angewendet und zwar gewässerter. Ein vollständiger Algenagar enthielt auf 1000 ccm destilliertes Wasser: 10—20 g gewässerten Agars, 1 g $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ oder KNO_3 oder NH_4NO_3 , 0,25 g MgSO_4 , 0,25 g K_2HPO_4 . Beim Plattengießen wurden Röhrchen mit etwa 10 ccm des geschmolzenen Agars in einem Wasserbade auf genau 40° C gebracht, worauf etwas von einer Algenaufschwemmung hinzugetan ward; mit etwa 0,5 ccm der ersten

Zweite Abt. Bd. 42.

13

Mischung wurde eine Verdünnungsplatte angelegt. Die Impfung wird genau beschrieben, wobei der Kampf gegen Pilze und Bakterien geschildert wird. Die Bakterienfreiheit ist leichter bei den „kriechenden“ Formen zu erreichen als bei den unbeweglichen. Mit der leichteren Verschiebbarkeit in der Agargallerte mag es teilweise zusammenhängen, daß kleinere Formen leichter kultivierbar sind als große. Verf. glaubt, daß seine Methode der Züchtung von Algen sich zu einer Art von biologischer Analyse der Gewässer ausbauen läßt, in ähnlicher Weise, wie das für ganz heterotrophe Organismen mit Hilfe von Bouillon- und Peptonnährböden gelungen ist. Für diesen Versuch spricht, daß viele im Objektträgerpräparat zu unförmlichen Knäueln zusammengeballte Algen im Agar ihre schönen Verzweigungssysteme ganz ungestört entfalten. Anfangs wird die Bestimmung von Algen in Agarplatten Schwierigkeiten machen; man muß sich eine Sammlung von Mikrophotographien der Kolonien herstellen. Schließlich ist die Farbe der Kolonien, wie sie besonders bei Beleuchtung von unten auf den Mikroskopisch deutlich wird, nicht ohne Bedeutung (anderes „Grün“ bei Volvocaceen, bei Scenedesmeaceen, Konjugaten usw.). Diese Tönungen können sicher für die Erkennung der Gattungen bzw. Gruppen der Algen eine wichtige Rolle spielen. Auf jeden Fall sind — vom Standpunkte des Biologen, der sich mit der Analyse der Gewässer befaßt — die angegebenen Winke lesenswert. In späteren Mitteilungen — in vorliegender werden nur die Einzelbeobachtungen über Zygnemaceen und Desmidiaceen mitgeteilt — wird ja der Verf. nähere Daten bringen. Matouschek (Wien).

Schulow, Ew., Versuche mit sterilen Kulturen höherer Pflanzen. (Ber. d. Deutsch. bot. Gesellsch. 1913. p. 97—121.)

Die in diesen Berichten (1911. p. 504) vom Verf. angegebene Methode zur Erzielung steriler Kulturen höherer Pflanzen benutzt Verf. zur Lösung einiger noch nicht geklärter Fragen.

1. Assimilation des Phosphors organischer Verbindungen. Er prüfte Lezithin und Phytin, Versuchspflanzen waren Mais und Erbsen. Der Phosphor des Lezithin wurde von beiden Pflanzen nicht ausgenutzt. Lehrreich ist ein Fall, wo eine unbeabsichtigte Infektion stattgefunden hatte (Bakterien, ein Schimmelpilz): Der Lezithinphosphor konnte gut ausgenutzt werden. Vom Phytin wurde durch die Erbsen organisch gebundener Phosphor assimiliert, vom Mais steht es nicht ganz fest: Es wird nämlich bei der Sterilisation der Kulturflüssigkeit ein Teil der Phytinphosphorsäure abgespalten, der in 1 Proz. Essigsäure löslich ist (beim Lezithin ist dies nicht der Fall). Je nachdem, ob dieser abgespaltene Teil als organischer oder mineralisierter Phosphor anzusehen ist, muß man die Ausnutzung des Phosphors beim Mais bewerten. (Der assimilierte Phosphor deckt sich ungefähr mit der abgespaltenen, in 1 Proz. Essigsäure löslichen Menge.) In dem zweiten Falle wäre es natürlicher anzunehmen, daß der Mais nur den leichter zugänglichen mineralischen Phosphor verwertet habe.

2. Zur Frage nach den organischen Wurzelabscheidungen. Verf. konnte hierbei die Ausscheidung von reduzierendem und nicht reduzierendem Zucker feststellen, bei Erbsen reichlichere Ausscheidung als beim Mais. Ferner wirkte NH_4NO_3 bedeutend günstiger auf die Zuckerausscheidung als $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$. Auch die Ausscheidung von Apfelsäure konnte Verf. nachweisen.

3. Erklärung des lösenden Einflusses von Ammoniumnitrat auf in Wasser unlösliche Phosphate. Versuche zeigten, daß junge Pflanzen mehr Ammonium-

stickstoff assimilierten als ältere. Dadurch würde das NH_4NO_3 physiologisch sauer, was die Löslichkeit der Phosphate erklären könnte. Pflanzen in mittleren Entwicklungsstadien nutzen Ammonium- und Nitrat-Stickstoff gleich gut aus, alte Pflanzen besser den Nitrat-Stickstoff. Auch die vom Verf. festgestellte Tendenz zur reichlicheren Ausscheidung von Apfelsäure bei NH_4NO_3 im Gegensatz zu $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ und von Zucker, wie im vorigen Abschnitt erwähnt, könnte bei der Frage des lösenden Einflusses einer Beigabe von NH_4NO_3 berücksichtigt werden. R i p p e l (Augustenberg).

Klein, Richard, Über Nachweis und Vorkommen von Nitraten und Nitriten in Pflanzen. (Beih. z. Botan. Centralbl. Bd. 30. Abt. I. 1913. p. 141—166, m. 2 Taf.)

Die Arbeit gliedert sich in folgende Teile: Über den mikrochemischen Nachweis von Nitraten, über das Vorkommen von Nitraten in Pflanzen, über den Nachweis von Nitriten und das Vorkommen von Nitriten in Pflanzen. Die wichtigsten Ergebnisse der Arbeit sind:

1. Die Busch'sche Reaktion mit „Nitron“ bewährte sich auch in der Botanik zur lokalisierten Fällung der Salpetersäure. Salpetersaure Salze kommen vorwiegend in krautigen Pflanzen vor, doch auch in *Tilia*. Über die Verteilung der Nitrats in den Stengeln und Blättern konnte ein genaueres Bild gewonnen werden als bisher, ebenso über den Salpeterverbrauch in den Früchten einiger Pflanzen. In der Guttationsflüssigkeit der typischen Nitratpflanzen fehlt der Salpeter, während er in dem ausgeschiedenen Wasser von anderen und von Keimlingen vorkommt. Zum Nachweis von Nitriten erwiesen sich als brauchbar: Die Griess'sche Reaktion und das Sulfanilsäure-Diphenylamin.

2. Bezüglich des Vorkommens von Nitriten in Pflanzen: Sie kommen in der durch den Wurzeldruck ausgeschiedenen Flüssigkeit von *Fuchsia* nicht vor, sondern entstehen erst durch die Tätigkeit von Bakterien und Pilzen. In den Knollen und Sprossen von *Sagittaria sagittifolia* und im unterirdischen weißen Stengelteile von *Pisum* sind sie gleichfalls nicht nachweisbar. Der Eintritt der Reaktion ist auf die Gegenwart von Anthokyan und Gerbstoffen im Preßsaft bzw. auf Verunreinigung des zur Fällung angewendeten Bleisalzes zurückzuführen. Im Preßsaft von etiolierten Kartoffeltrieben hat schon Aso Nitrite nachgewiesen; sie finden sich auch dann, wenn die Sprosse sich ohne Zufuhr von Nährsalzen entwickelt haben. Im Preßsaft der Knollen sind Nitrite selbst dann nachweisbar, wenn diese äußerlich keine Keimung zeigen. Auch im Preßsaft von *Erythrina*-Blättern finden sich Nitrite. Solche wurden auch in den Wurzelknöllchen einiger Leguminosen gefunden, namentlich bei *Phaseolus multiflorus*. M a t o u s c h e k (Wien).

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Krzemecki, A., Über Jod- und Bromeinwirkung auf Proteinkörper. (Bull. intern. de l'acad. d. sc. de Cracovie. 1911. p. 470—488.)

Die Kulturversuche zeigten:

Verf. experimentierte mit *Saccharomyces cerevisiae*, *Bacterium aceti*, einer gasbildenden Art von *Thermo-Bac-*

terium, *Oidium lactis* und *Penicillium glaucum*. In den Petrischalen befand sich folgender Nährboden: 1 Proz. der halogenhaltigen Substanz, vermischt mit 10 Proz. Gelatine zur Haydukschen Nährlösung für Hefekulturen. Nach 14 Tagen brachten im Thermostaten bei 25° C die Platten mit reinem Eieralbumin alle genannten Mikroben zur Entwicklung. Auf Platten mit Bromalbumin (18,05 Proz. Br.) entwickelten sie sich üppiger als auf den genannten. Auf Platten mit Jodalbumin (28,29 Proz. J.) hat sich erst nach weiteren 11 Tagen nur *Oidium* und *Penicillium* entwickelt. Doch sind diese Resultate nur als vorläufige anzusehen.

Matouschek (Wien).

Kryž, Ferdinand, Über die Aufnahme von Vaselineöl durch Balsaminen. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1913. p. 34—38.)

Verf. stellt Versuche mit Balsaminen an, die Beigaben von gereinigtem, relativ leichtflüssigen Vaselineöl bekamen. Das Vaselineöl wurde rein mechanisch durch die Tracheen in die ganze Pflanze geleitet und in den Interzellularen gespeichert. Die chemische Analyse der Blätter ergab, daß eine Assimilation des Vaselineöls nicht stattgefunden hatte. Sofort nach der Ölbehandlung hörte das Wachstum der Versuchspflanzen auf, die Blätter wurden von unten nach oben fortschreitend gelb; die Transpiration sank und war nach 4 Tagen gleich 0, während die Blätter noch turgeszent waren. Verf. zieht daraus den Schluß: „Der Ölgehalt der Blätter schützt die Pflanze gegen stärkere Transpiration (vom Verf. gesperrt gedruckt!), wie dies bekanntlich bei den Pflanzen mit natürlichem Ölgehalt in den Blättern der Fall ist.“ Der Schluß dürfte ungerechtfertigt sein, da in diesem Falle, in dem die Pflanzen durch die Vaselineölbehandlung schließlich zugrunde gingen, nicht von einem Schutz der Pflanze gegen stärkere Transpiration gesprochen werden darf; die beiden Fälle dürfen kaum ohne weiteres miteinander in Parallele gesetzt werden.

Rippel (Augustenberg).

Russell, E. J. and Petherbridge, F. R., Partial Sterilisation of Soil for Glasshouse Work. (Journ. of the Board of Agric. Vol. 18. 1912. No. 10.)

Die durch Anregung der Umsetzungen und Abtötung von Schädlingen günstige Wirkung einer partiellen Bodendesinfektion kann mit Nutzen in Treibhäusern verwertet werden. Über entsprechende Versuche wird berichtet. Im allgemeinen bewährte sich die Erhitzung auf 180—200° F am besten; auch $\frac{1}{2}$ Proz. Toluol oder Schwefelkohlenstoff kam in einigen Fällen zur Anwendung. Die Kosten beliefen sich auf $\frac{1}{2}$ —1 sh pro Tonne Erde; das Verfahren ist für den angegebenen Zweck oft entschieden rentabel.

Löhnis (Leipzig).

Kryž, F., Über die Wirkung eines graphithaltigen Bodens auf darin keimende und wachsende Pflanzen. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1913. p. 72—81.)

Hoher Graphitgehalt des Bodens, selbst bis zu 80 Proz. vermag keinen unmittelbar vernichtenden Einfluß auf das Gedeihen der Pflanzen auszuüben. Doch keimen sie bei einem hohen Graphitgehalt des Bodens schwerer, auch zeigen sie schlechteres Wachstum als normal wachsende Pflanzen. Eine Erschwerung der Aufnahme von Bodennährsalzen tritt nicht ein. Sämtliche Graphitpflanzen zeigten gesteigerte Transpiration normalen Pflanzen gegenüber. Dieser gesteigerten Transpiration schreibt Verf. die Verwelkungs-

erscheinungen zu, die an Tazettenzwiebeln auftraten, welche er in graphithaltigem Boden kultivierte. In der Natur dürfte auch durch die dunkle Farbe des Graphitbodens eine intensivere Erwärmung stattfinden.

R i p p e l (Augustenberg).

Lehmann, K. B., Die neuesten Arbeiten über Bestimmung, Konservierungskraft und Zulässigkeit der Benzoësäure. (Chemikerztg. Bd. 35. p. 1314.)

Kritische Besprechung der hierher gehörigen Arbeiten. Nach dem Stand der Forschung ist Benzoësäure unbedenklich zur Konservierung. L. fordert jedoch Deklarationszwang. Der Einwand, daß Zusatz chemischer Konservierungsmittel unsauberes Arbeiten begünstige, ist richtig, doch trifft dieser Einwand für alle anderen Konservierungsarten (Hitze, Kälte, Zuckerzusatz usw.) auch zu. W e d e m a n n (Berlin-Lichterfelde).

Petritsch, E. F., Neuere Bestrebungen auf dem Gebiete der Holzkonservierung. (Centralbl. f. d. gesamte Forstw. Jg. 38. 1912. p. 265—282, 321—323, 383—392.)

Der vom Verf. gegebene Überblick über die verschiedenen Imprägnierungsmittel und -Methoden ergab folgende Resultate:

1. Eine jede das Holz zerstörende Pilzart zeigt gegen verschiedene Mittel ein ganz besonderes individuelles Verhalten.

2. Das Kupfervitriolverfahren nach B o u c h e r i e wird langsam verdrängt durch das Kyanisierungsverfahren und das Verfahren mit Kreosotöl. Es werden genau erläutert die Sparverfahren des Kreosotierungsverfahrens, nämlich das R ü p i n g s c h e Sparverfahren und das von R ü t g e r s. Bei diesen Sparverfahren kommt es namentlich darauf an, welches Quantum Kreosotöl dem Holzgewebe einzuverleiben ist, um damit den größten wirtschaftlichen Effekt zu erzielen, d. h. um die antiseptische und konservierende Wirksamkeit des Kreosotöls möglichst vollkommen auszunutzen. Ein Übelstand ist darin gelegen, daß sie nur bei der Kiefer mit durchgreifendem Erfolge angewendet werden können.

3. Da jedoch oft (z. B. in Ungarn) nur die Fichte und Tanne zur Verfügung steht, so mußte man ein Sparverfahren für solche schwer imprägnierbaren Holzsorten ausfindig machen. Das ungarische Verfahren basiert auf folgendem: Es genügt, nur das Stammende der Stangen voll zu imprägnieren; damit das Kreosotöl zu den tiefer gelegenen Tracheidenzügen des Holzgewebes gelangen kann, preßt man durch Maschinen kleine Nägel (15 bis 25 mm lang) in das Holz. Die Festigkeit solcher perforierten Hölzer leidet nicht; die Löcher schließen sich. Dem oberen Teile der Stangen wird nur jene Menge Kreosotöl zugeführt, die zur Abtötung der oberflächlich ins Holz hineingeratenen Pilzkeime erforderlich ist. In Österreich aber verwendet man jetzt ein kombiniertes Verfahren: Das Holz wird zuerst mit einer wässerigen Lösung eines Metallsalzes (NaF) getränkt und man preßt dann Kreosotöl bis zur Sättigung des Splintgewebes nach. Da die Metalllösung tiefer dringt als das Öl und beim Verdunsten das Öl angesaugt wird, so erzielt man ein beträchtlich tieferes Eindringen des Öls. Verf. erläutert noch das in Italien übliche Kreosotierungsverfahren nach G i u s s a n i und die weit einfacheren Verfahren in Nordamerika. Die Verfahren in letztgenanntem Lande schützen das Holz vor dem Spechte und dem Käfer *Sarandra brunea* Fab., welche zwei Schädlinge in Europa nicht in Betracht kommen. Das Auftreten des Bockkäfers *Hylotropus baju-*

lus und des Bohrkäfers *Hyloterus lineatus* in kyanisierten Holzsäulen in Württemberg deutet darauf hin, daß die Zubereitung mit Quecksilberchlorid gegen die Angriffe dieser Insekten keinen wirksamen Schutz gewährt. Das Kreosotöl schützt aber nach F. Seidenschneider sicher vollauf gegen den Bohrwurm bei Seebauten. Da das Quecksilberchlorid giftig und das Kreosotöl gesundheitsschädlich ist, so suchte man nach neuen Imprägnierungsmitteln. Die in neuester Zeit verwendeten sind entweder Verbindungen des Phenols und seiner Homologen oder Fluß- bzw. Kieselflußsaure Salze. Zu der ersteren Gruppe gehören das b-Naphthalinsulfosaure Zink („Wiesesalz“) und die Dinitroverbindungen des Phenols (Antimonin, Antigermin, Mikrosol usw.). Verwandt damit sind das „Bellit“ oder der „Bellitdoppelfluor“, dann „Bellitol“, bei denen aber Natriumfluorid mit verwendet wird. Die großzügigen Versuche der österreichischen Staatstelegraphenverwaltung erstreckten sich auf Imprägnierungsmittel der zweiten Gruppe, vor allem auf das saure Zinkfluorid. Die Fluoride sind sicher dem Kupfervitriol und dem Zinkchlorid überlegen. Der Ersatz des ersteren beim Boucherie-Verfahren durch Fluornatrium erscheint durchführbar und vorteilhaft. Die geringsten Bedenken gegen die Verwendung der Fluoride bestehen im Hochbau.

M a t o u s c h e k (Wien).

Gossard, H. A., Entomological Review of the Year 1910. (Journ. of Econ. Entom. 1911. Jg. 203.)

Uns interessiert namentlich die Bevorzugung der Schwefelkalkbrühe in Verbindung mit Bleiarsenik gegenüber der Bordeauxbrühe.

M a t o u s c h e k (Wien).

Grosser, Zur Verwendung der kalifornischen Brühe [Schwefelkalkbrühe]. (Illustr. schles. Monatsschr. f. Obst-, Gemüse- u. Gartenb. 1913. p. 57—58; Monatsbeil. d. Zeitschr. d. Landw.-Kamm. f. d. Prov. Schlesien.)

Zur Winterbehandlung werden verwendet:

Gegen Schildläuse, Schorf, Stachelbeermehltau, Rosenrost, Kräuselkrankheit der Pfirsiche: die Konzentrationen 1 : 2 bis 3;

gegen die Birnpockenmilbe und Eichenmehltau (im Sommer): die Verdünnungen 1 : 25;

als Sommerbehandlung gegen *Fusicladium*, Mehltau, Stachelbeermehltau, Rosenrost, Blattläuse, Spinnmilben und Rosenzikaden: die Verdünnungen 1 : 25 bis 35;

gegen die Kräuselkrankheit und Blattläuse der Pfirsiche (im belaubten Zustande): die Verdünnung 1 : 45 bis 50.

M a t o u s c h e k (Wien).

Hewitt, G. C., Legislation in Canada to prevent the Introduction and Spread of Insects, Pests and Diseases destructive to Vegetation with Regulations of Vegetation into Canada. (Dom. of Canada. Dep. of Agr. Exper. Farms. Dir. of Entomol. Bull. 12. Ser. II. 36 pp. Ottawa 1912.)

Eine Übersicht über die Vorschriften behufs Verhütung der Einschleppung und Verbreitung von schädlichen Insekten und Pflanzenkrankheiten in Kanada (Gesetz vom 4. V. 1910) und die Spezialerlässe bezüglich der Provinzen Britisch-Kolumbia, Neuschottland, Ontario, Prinz-Edwards-Land. Genaue Daten über die Einfuhrmöglichkeit von Pflanzen aus Europa, Japan und diversen Staaten N.-Amerikas, bzw. deren Desinfektion. Die Vor-

schriften beziehen sich namentlich auf folgendes: *Euproctis chrysorrhoea*, *Schizoneura lanigera*, *Aulacaspis pentagona*, *Aspidiotus pentagona*, *Porthetria dispar*, *Chrysophlyctis endobiotica*, *Diaporthe parasitica*, *Nectria ditissima*, *Sphaerotheca morsuvae*, *Peridermium strobil*, *Ceratitis capidata*. Ganz verboten ist die Einfuhr von Kartoffeln aus Europa, N.-Foundland, St. Pierre, Miquelon, ferner die von Koniferen aus einer Zahl von Staaten der Vereinigten Staaten. Das Gesetz vom 1. März 1911 für Britisch-Kolumbien befaßt sich mehr mit der praktischen Durchführung des Pflanzenschutzes, wobei in der Liste der Bekämpfungsmittel als Magengifte für Insekten Parisergrün, Nießwurz, Bleiarsenat empfohlen werden. Neuschottland kontrolliert und desinfiziert nur die aus anderen Teilen Kanadas einlaufenden Sendungen. In Prinz Edwards-Land und Ontario haben die Schutzvorschriften vorläufig nur intraprovinziale Bedeutung.

M a t o u s c h e k (Wien.)

Koczirz, Fritz, Die chemische Zusammensetzung des Pilzbekämpfungsmittels „Forhin“. (Zeitschr. f. d. landw. Versuchswes. in Österreich. Jahrg. 15. 1912. p. 755—757.)

„Forhin“ ist eine grüne, nach Ammoniak riechende Paste von sirupartiger Beschaffenheit, die sich in verdünnter Salz- oder solcher Salpetersäure sehr leicht mit gelbbrauner Farbe löst. In Wasser verrührt, bildet es eine undurchsichtige malachitgrüne Flüssigkeit, welche die wirksamen Bestandteile in feiner Verteilung schwebend enthält. Läßt man die Flüssigkeit einige Minuten ruhig stehen, so erhält man einen Niederschlag in 2 Schichten. Die unterste Schicht enthält neben unbedeutenden Mengen schwarzer Cu-Verbindungen feinkörnigen Schwefel (2 Proz. der Paste); der darüber stehende feine, hellgrüne Niederschlag ist sehr leicht beweglich und enthält die Hauptmenge des vorhandenen Cu. Der Rest befindet sich in der über den beiden Schichten stehenden Flüssigkeit in Lösung. Die qualitative chemische Analyse des Präparates ergab folgende Zusammensetzung: Cu, Ca, NH₃, S, SO₄, H₂O, organische Substanz (Melasse, etwas Öl) und andere Stoffe in geringer Menge, zum Teil in Spuren. Der wichtigste Bestandteil ist der Kupfervitriol, welcher 40,8 Proz. des Gewichtes der Paste ausmacht. Die Melasse erhöht die Haftfähigkeit des Präparates. Die Angabe, daß eine 1½proz. Formalinlösung einer 1proz. Bordelaiserbrühe entsprechen soll, ist nicht richtig.

M a t o u s c h e k (Wien).

Bretschneider, A., Die falschen Meltaupilze (*Peronosporaceae*) und ihre Bekämpfung. (Monatshefte f. Landw. Jg. 5. 1912. p. 138—147, mit Textabbild.)

Ähnlich wie früher über die *Erysipheen* gibt Verf. in der vorliegenden Arbeit über die *Peronosporaceen* eine für die Praxis berechnete Darstellung. Es wird die Biologie der Pilze behandelt, ihr wichtigstes Vorkommen erwähnt und dann auf die Bekämpfung eingegangen, die bekanntlich durch vorbeugende Bespritzungen mit Kupferkalkbrühe zu erfolgen hat. Bei der Besprechung der Herstellung der Kupferkalkbrühe vermiße ich einen Hinweis darauf, daß man durch Zuckerzusatz die Haltbarkeit der Brühe bedeutend erhöhen kann. Zur Feststellung, ob die Brühe noch sauer und schon alkalisch ist, eignet sich Phenolphthaleinpapier am besten, was erwähnenswert gewesen wäre.

K. M ü l l e r (Augustenberg).

Wiebecke, Moderne Anlage von Kiefern und Kiefern-buchenbeständen. Vortrag. (Zeitschr. f. Forst- u. Jagdwes. Jahrg. 44. 1912. p. 379—384.)

Uns interessieren hier nur folgende Daten aus der Oberförsterei Eberswalde:

1. **Rüsselkäfervertilgung:** Der Kiefernüsselkäfer findet überall in den im Boden bleibenden Restwurzeln sowie in den zahllosen Stubben der Durchforstungen reichliches Brutmaterial. Seine Vermehrung wird bekämpft durch Sammeln aus frühzeitig hergestellten Käfergräben, durch Beerden der Stubben aus je 2 Fanglöchern und Aussammeln der Käfer in diesen, durch Absammeln an reichlichen Fangkolben, die auf den Kulturen im Juli erneuert werden, um auch die jungen Käfer rechtzeitig zu vernichten. Auf diese Art werden jährlich über 100 l à 2400 tote Käfer gesammelt. Käferschäden wurden dann kaum noch bemerkt.

2. **Grasentfernung aus den Kiefernkulturen:** Alle Kulturen werden behackt und zwar schon im Juli des ersten Jahres. Entfernt werden dadurch besonders das Sandrohr, Quecke, *Molinia coerulea*. Als Gründe werden angeführt: Weniger wegen des Überlagerns des Grases, als der Entzug der Bodenfeuchte, Vermehrung der Wärmeabstrahlung; Vorbedingung für wirksame Schüttebekämpfung.

3. **Schüttebekämpfung:** Grundsätzlich werden alle Kulturen bis zum 4. Lebensjahre gespritzt, besonders kräftige nur 3mal, die durch Sandrohr gefährdete, frostbeschädigte oder sonst zurückgebliebene auch noch im 5. Jahre. Die Kosten werden genannt.

4. **Wildverbiß:** Alle gefährdeten Kulturen werden Anfang September geteert, die Knospen der Fremdländer durch Kalkbreitupfe gegen das Verbeißen bewahrt, Vorwüchse und Wacholder sowie alle Weichhölzer bleiben zwischen den Kulturen zum Verbeißen, Befegen usw. stehen.

Matouschek (Wien).

Hartley, C. P., Use of soil fungicides to prevent damping-off of conifer seedlings. (Proc. Soc. American Foresters. 7. 1912. p. 96—99.)

Bespritzung mit wassergelöster schwefliger Säure bewährte sich gegen die Fäule der Koniferenkeimlinge, hervorgerufen durch *Rhizoctonia* und *Pythium*, recht gut, doch besser auf sandigem, als auf lehmigen Boden.

Matouschek (Wien).

Lemcke, Alfred, Unsere Pflanzenschädlinge im Monat Mai. Zur Beachtung für die Sammler der Pflanzenschutzorganisation in Ostpreußen. (Georgine. Jg. 1911. No. 18. 8 pp.)

Verf. bespricht diejenigen Pflanzenschädigungen, die in Ostpreußen nach dem milden Winter 1910—1911 im Frühjahr schon aufgetreten sind oder noch auftreten könnten. Einige Notizen teile ich mit. Bei Getreidefliegenbefall konnte durch eine Kopfdüngung mit Chilisalpeter stets das Wachstum der Pflanzen wesentlich befördert werden. Gegen Drahtwürmer bewährte sich eine Kainitdüngung von 2—3 Zentner pro Morgen wie auch eine Bespritzung mit 10-proz. Eisenvitriollösung. Letzteres namentlich dort, wo viel mit Kalk oder Thomasschlacke gedüngt wurde oder wo der Boden von vornherein kalkhaltig ist. Auch möge man die Getreidesaat mehr oberflächlich unterbringen, weil dann die Schädlinge mehr die Wurzeln angreifen,

die sich wieder erneuern und den Keim weniger leicht vernichten können. Im Gemüseland bekämpft man am besten die Drahtwürmer durch Auslegen von halbierten und ausgehöhlten Kartoffelstücken und ähnlichem Köder. Gegen die Zwergzikade bewährten sich Fangmaschinen, die aus einer langen, durch 2 hohe und recht leichte Räder verbundenen Achse bestehen, von der ein mit Raupenleim (oder Teer) bestrichener Stoffstreifen herabhängt. Der untere 3 cm breite Rand ist nicht mit dem Klebstoff zu bestreichen. Die klebengebliebenen Insekten werden mit dem Stoffstreifen dann verbrannt. Der Befall geschieht vom Rande aus, daher Umpflügen der befallenen Randpartien. Hafer und Gerste sind bei sehr starkem Befalle umzupflügen.

Gegen Befall mit Gelbrost empfiehlt sich kräftige Düngung und Wahl widerstandsfähiger Sorten. Feldraine rein halten!

Gegen Ackerschnecken half nur frisch gelöschter Kalk bei trockener Witterung. Die Kalkung ist früh morgens u. zw. zweimal in Zwischenräumen von $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ Stunde vorzunehmen. $2\frac{1}{2}$ hl pro Morgen.

Gegen Disteln bewährte sich, wie auch gegen Huflattich eine starke Kainitgabe.

Gegen Brennesseln Bespritzung mit 15-proz. Eisenvitriollösung.

Kartoffelkrankheiten sind im Gebiete zum Glück selten.

Ratschläge über Bekämpfung von Krankheiten der Rüben, Raps, Kohl, Rotklee, Lupine, der Gemüse und Zierpflanzen, Obstbäume, Stachelbeersträucher usw.

M a t o u s c h e k (Wien).

Snyder, T. E., Insect damage to mine props and methods of preventing the injury. (U. S. Dep. of Agric. Bur. of Ent. Circ. 156. 1912.)

Vom Standorte des Fichtenholzes im Walde werden oft die holzbohrenden Insekten in das in den Minen verwendete Holz eingeschleppt. Daher empfiehlt sich Kreosotimprägnierung der Bohlen. In anderen Fällen gelangen Schädiger (z. B. Termiten) erst in den Minen ins Holz. M a t o u s c h e k (Wien).

Sopp, Olav [Johann Olsen], Untersuchungen über Insekten vertilgende Pilze bei den letzten Kiefernspinner-Epidemien in Norwegen. (Skrifter utg. av Videnskapselsk. i Kristiania. 1911. Math.-nat. Kl. Bd. 1. Kristiania 1912. p. 1—56, 5 Taf.)

Zuerst ein Bericht über die letzten Kiefernspinner-Epidemien (*Gastropachapini*) in Norwegen (Elverum, Mykland, Sogn). Es wird das biologische Verhalten von *Penicillium*-Arten, von *Botrytis tenella* (im Laboratorium ein sehr gefährlicher Pilz für die Raupen), von *Cordyceps militaris* und *Isaria destructor* (nicht pathogen), *Sporotrichum globuliferum* (tötet die Raupen), von *Muscardin*-Formen, von *Trichothecium*- und *Acrostagasmus*-Arten, von *Verticillium*-Arten, vielen Mikrokokken und Bakterien (*Bacillus coli commune* ist im Darms der Raupe ständig anzutreffen), von Oidien, von *Acaulium*-Arten, von *Mucor*-Spezies, von Hefepilzen (*Saccharomyces* und *Torula*) usw. gegen den Schädling beschrieben, wobei Vergleiche zwischen den Funden in den einzelnen Gebieten angestellt werden. Als neu werden beschrieben: *Monilia Bombycis*, *Penicillium rubrum*; von *Torula Bombycis* unterscheidet Verf. eine forma major und f. minor. Es

folgen gründliche Angaben über Infektionsversuche mit Raupen und anderen Insekten, ferner über Selbstinfektion der Fliegen und Mücken mit diversen Pilzen, wobei manche *Isaria*-Form erläutert wird.

Gelegentlich einer Spinnerepidemie in Mykland 1906/07 fand Verf. einen Pilz auf den im Winterschlaf ruhenden Raupen der *Gastropacha* sehr häufig (80 Proz.), der diese mumifizierte. Eine Reinkultur gelang, so daß der Pilz, *Cordyceps norvegica* Sopp, in allen Fruchtformen bekannt ist. Im Laboratorium ist er sehr infektiös für Fliegen und andere Insekten, deshalb kann seine Virulenz stets aufrecht erhalten werden. Er gedeiht aber im Waldhumus sehr gut noch bei -2° C. Bei der Bluttemperatur der Raupe ($12-15^{\circ}$ C) ist sein Optimum gelegen. Der Boden befallener Wälder ist mit den Sporen dieses Pilzes zu infizieren. Sporen wird man jederzeit leicht zur Verfügung haben, da die Kultur eine leichte ist und er in der Kultur selbst das *Penicillium glaucum* überwuchert. Die Winterinfektion ist eine viel wirksamere als die Sommerinfektion mit Sporen. Doch muß der Pilz in der Kultur innerhalb 10—12 Monaten erneuert werden. Die Unterschiede der oben genannten neuen Art gegenüber *Cord. militaris* werden genau fixiert. Die Fruchtkörper ersterer messen bis zu 20 cm und sind prächtig rot gefärbt (farbiges Bild); die *Isaria*-Fruchtform ist auch immer größer. *C. militaris* wirkt bezüglich der Raupen in Norwegen nicht tödlich; Bakterien und Hefepilze können in den Körper der gesunden Tiere nicht eindringen, wohl in den der erkrankten oder halberfrorenen Raupen.

M a t o u s c h e k (Wien).

Schaffnit, E., Die Herstellung und Vorbereitung des Saatgutes. (Fühlingslandw. Zeitg. Jahrg. 61. 1912. p. 665—682.)

Die Herstellung und Vorbereitung des Saatgutes erfordert zweierlei Maßnahmen: 1. Die Kornauslese, welche die Sortierung des Kornes nach Gewicht und Größe an und für sich, sowie die Abscheidung des in der Entwicklung zurückgebliebenen und kranken Kornes umfaßt. 2. Die Kornbeize, d. h. die Behandlung des durch die Sortierung gewonnenen Saatgutes mit chemischen Mitteln und die Anwendung von hohen Temperaturen zur Entfernung und Abtötung der an und im Korn vorhandenen Pilzkeime. Der Verf. macht zuerst aufmerksam auf die diversen Maschinen, welche die Sortierung vornehmen; das Schmachtkorn und Hinterkorn wird abgeschieden, so daß die Triebkraft bis zu 95 Proz. und mehr erhöht wurde. Diesen Versuchen hat Verf. durch Zerlegung der Gesamtfunktionen von Windfege und Ausleser in Einzelfunktionen ganz bestimmte Normen zugrunde gelegt und zwar handelt es sich um die Zahl von 100 Kurbelumdrehungen pro Minute, um ganz bestimmte Schlitzöffnungen des Durchlaufs für die einzelnen Getreidesorten und die zu benützenden Schüttelsiebe, bezüglich der Trieurbehandlung und bestimmte Schlitzweiten. Werden da die gegebenen Bedingungen eingehalten, so bleibt die Triebkraft nicht wesentlich hinter der Keimzahl zurück. Die gegebenen Vorschriften sind sehr zu empfehlen und sollten scharf eingehalten werden. Eine entsprechend größere Menge von Saatgut zu drillen wäre ganz verfehlt, denn das nicht entwicklungsfähige Korn kann anderweitig nutzbringend verwendet werden, das nur schwächliche Pflanzen erzeugende Korn aber würde für den Befall durch pflanzliche und tierische Schädlinge auf dem Acker disponieren und durch zu dichten Stand die Entwicklung der kräftigen Pflanzen hemmen.

Das Beizen des Saatgutes gelingt am besten und sichersten in bezug auf

die Mikroorganismen, die am Korn oder zwischen den Schichten der Fruchtschale vorhanden sind. Dazu gehören:

A. Der Steinbrand (Blauspitzigkeit) des Weizens. Die Infektion des Getreides erfolgt beim Drusch. Als bestes Mittel wird empfohlen, da kurz vor dem Drillen oder zu beliebiger Zeit anwendbar: Waschen mit kaltem Wasser und darauf kurzes Beizen (wenige Minuten) mit 1—2-proz. Kupfervitriollösung oder 0,25-proz. Formalinlösung im Bottich (wenn viel Steinbrand vorliegt) oder Überbrausen mit Wasser und darnach mit 1—2-proz. Kupfervitriollösung oder 0,25-proz. Formalinlösung, soweit das Eintauchen aus wirtschaftlichen Gründen nicht angezeigt ist und nur schwacher Brandbefall vorliegt. Hernach immer ein Ausbreiten des Getreides womöglich im Freien.

B. Der Helminthosporium-Befall (Braunspitzigkeit?) der Gerste: Entweder die Kupferbeize nach Kühn'schem Verfahren (= 12—16-stündige Quellung in der 0,5-proz. Kupferlösung ohne Nachbehandlung mit Kalk) oder Heißwasserbeize (wie beim Hafer).

C. Der Hartbrand der Gerste: Am besten mit dem Flugbrand durch Heißwassermethode zu bekämpfen. Ohne große wirtschaftliche Bedeutung.

D. Der gedeckte Haferbrand und der Flug- oder Staubbbrand des Hafers: Am besten zu bekämpfen durch die Beize mit 1 Proz. Kupfersulfat oder 0,1 Proz. Formalin. Kupferkalk ist zu verwerfen.

E. Der sekundäre Fusariumbefall (Rotschäligkeit) des Roggens: Genaue Versuche zeigten dem Verf., daß die Folgen des Fusarium-Befalles beseitigt werden können durch $\frac{1}{4}$ -ständiges Beizen des Getreides mit $1^{\circ}/_{\infty}$ Chinosollösung oder $2,5^{\circ}/_{\infty}$ Formalinlösung oder 1 Proz. Kupfersulfatlösung, ohne daß Keimfähigkeit und Triebkraft Schädigungen erfahren. Namentlich das erste Mittel bewährte sich sehr gut; die Beizflüssigkeit (100 l) erfordert 100 g Chinosol (= schwefelsaures Dioxychinolin) oder 100 käufliche Tabletten à 1 g. Mit dieser Menge reicht man für 100 Ztr. Roggen aus, in 5 Minuten ist die Lösung, welche nur 6,6 Pfg. kostet, fertig. Für größere Betriebe verwende man Beizmaschinen (Dehne in Halberstadt, Heid in Stöckerau).

Endophytische Pilze: Der Weizen- und Gerstenflugbrand. Erläutert wird hier die Appelsche Heißwasserbeize mit Hilfe des nach Schander abgeänderten Ventzkischen Futterdämpfers.

Maßnahmen gegen Tierfraß (Mäuse, Krähen, Sperlinge, Feldtauben, Fasanen, Hamster usw.): Als bestes Mittel erwies sich die Kandierung der Körner mit bitter schmeckenden und penetrant riechenden Stoffen (Aloe mit Infusorienerde nach Rörig; Antiavit, Floria-Saaten-schutz, Cuprocorbin nach Verf.). Alle diese Mittel haben sich in der Praxis bewährt; die Rezepte und Kosten werden angeführt.

Matouschek (Wien).

Fuschini, C., Dei mezzi piu idonei per combattere la carie ed il carbone. (Stazioni speriment. agrar. Vol. 45. 1912. p. 549—586.)

Auf Grund mehrerer Versuche über Saatbeize kommt Verf. zum Schluß, daß nur 0,5 Proz. Kupfersulfat, 1—2 Prom. Formaldehyd und 3 Proz. Lysoform gegen den Weizensteinbrand anzuraten sind. Gegen den Flugbrand zeigte keine Samenbehandlung eine praktisch verwertbare Wirksam-

keit. Verf. empfiehlt daher, die brandigen Ähren während der Blüte zu sammeln. Er hat auch Züchtungsversuche resistenter Sippen angelegt.

P a n t a n e l l i (Rom).

Elofson, A., Redogörelse för verksamheten vid Sveriges Utsädesförenings Ultunafilial år 1911. (Sveriges Utsädesf. Tidskr. 1912. p. 284—295.)

Bei der Winterweizenzüchtung kommt es darauf an, auch winterfeste Sorten zu erzielen. Kreuzungen spielen eine große Rolle bei Erziehung von Formen, die gegen Rost widerstandsfähig sind. So zeigten letztere Eigenschaft namentlich die Kreuzungen zwischen Pudel- und dem Landweizen. Doch verhalten sich diese verschieden unter diversen klimatischen Bedingungen.

M a t o u s c h e k (Wien).

Fuschini, C., Il solfato ferroso contro la ruggine. (La rivista di vitic. Ser. 4. Vol. 14.)

Weizen wurde bei Versuchen des Verf. auf einer mit 2 dz. Eisensulfat gedüngten Parzelle ebenso rostig wie auf der unbehandelten Parzelle; dagegen konnte bei der Feldbohne eine günstige Wirkung der Düngung mit 3 dz. Eisenvitriol pro ha beobachtet werden, wie auch aus folgenden Zahlen erhellt.

	Stroh	Körner
Mit FeSO ₄ gedüngte Parzelle	10,32 dz	9,80 dz
Ohn FeSO ₄ gedüngte Parzelle	7,60 dz	7,40 dz

Eine günstige Wirkung der Eisendüngung gegen den Rost beruht nach Verf. auf der beobachteten Steigerung der Vegetationskraft.

P a n t a n e l l i (Rom).

Herrmann, E., Der Hallimasch. (Kosmos. 1912. p. 151—152.)

Gegen den Pilz mit seinem großen Wurzelwerk läßt sich wenig unternehmen: Verbrennen des befallenen Waldbaumes und Ziehen von Isoliergräben. Im Obstgarten darf nie Waldstreu verwendet werden. Nie werfe man Abfälle des Pilzes auf den Komposthaufen.

M a t o u s c h e k (Wien).

Binder, W., Wichtige Fragen des Obstbaues. (Landwirtschaftl. Mitteil. f. d. Prov. Sachsen, Beil. z. Halleschen Zeitg. 1912. p. 141—143, 145—146, 149—151, mit Fig.)

Uns interessieren hier nur folgende Angaben:

I. Schutz der Obstbäume gegen Wildverbiß. Buschobstanlagen sind stets hasendicht einzufriedigen. Wenn Kaninchengefahr vorliegt, so muß der Zaun $\frac{1}{2}$ m tief eingegraben sein, damit ein Unterwühlen ausgeschlossen ist. Da Kaninchen und Hasen Zäune bis 1,20 m Höhe leicht überklettern, ist das Anbringen einiger dicht übereinander laufender Stacheldrähte empfehlenswert. Bei Hochstammanlagen wäre es Verschwendung, den Drahtkorb um Baum und Pfahl herumzulegen. Der Drahtkorb muß lose sitzen, damit die am Stamme sitzenden Unkräuter entfernt und bei hohem Schneefalle die vom Wild dann eventuell erreichbaren Stammteile vor Verbiß geschützt werden können. Nimmt man anderes Material zum Stammschutze, so ist auf Zutritt von Licht und Luft zum Stamme zu sehen. Einen guten Schutz der Stämme bilden auch die bei dem Beschneiden der Obstbäume entfernten und unter den Bäumen liegenden Äste, da die Nager zunächst diese abschälen, ehe sie sich an den frischen Stämmen vergreifen. Gegen Krähen und andere schwere Vögel, die sich gern auf die jungen Triebspitzen der Bäume

setzen, verleiht man der jungen Krone Schutz durch ein hochstehendes und am Baumpfahle angenageltes Holzkreuz.

II. Das Beschneiden der Obstbaumkronen und die zweckmäßige Düngung.

III. Schädiger und Krankheiten. Da werden erläutert die Winter- und Sommerbekämpfung, besonders der Blattläuse und Schildläuse mittels Brühen deren Herstellung genau erläutert wird, die Herstellung von Raupenleimgürteln, Behandlung des Apfelbaumkrebses und des Schorfpilzes.

Matouschek (Wien).

Betten, R., Der Zweigabstecher. (Erfurter Führer i. Obst- u. Gartenb. Bd. 13. 1912. p. 59.)

Das Insekt muß man abklopfen, das Unkraut im Bereiche der Baumscheibe entfernen und den Boden im Herbst oder Winter umstürzen.

Matouschek (Wien).

Hultsch, Max, Wie überwintern unsere Obstbaumfeinde und was kann man im Winter zu ihrer Bekämpfung tun? (Landwirtschaftl. Mitt. f. d. Prov. Sachsen. Beil. z. Hallesch. Zeitg. 1913. No. 3. p. 11.)

Das Schneiden und Ausputzen der Bäume muß von allen Obstzüchtern einer Gegend gemeinsam vorgenommen werden. Doch ist dieser Vorgang nicht die einzige Art der Bekämpfung. Gegen die Eier des Schwammspinners verwende man Petroleum (Apparate von Altmann - Berlin), die Raupenester (Goldafter, Baumweißling) verbrenne man. Die alte Borke der Stämme und Äste und das Moos muß abgekratzt und die betreffenden Teile müssen verbrannt werden (Ausbreitung eines Tuches auf der Erde, damit nichts entgeht). Ein Anstrich der Stämme und Äste mit 10-proz. Karbolineum vernichtet manches Ungeziefer; das Kalken der Bäume nützt wenig. Schutz den Vögeln!

Matouschek (Wien).

Quaintance, A. L., The leaf blister mite. (U. S. Dep. of Agr. Bur. of Ent. Circ. 154. 1912.)

Biologie der Birnblattpockenmilbe (*Eriophyes piri* Pst.). Bekämpfung: Petroleumemulsion oder Schwefelkalkbrühe im Herbst und Frühling oder nur im Herbst oder nur im Frühjahr. Im ersteren Falle ist Schwefelkalkbrühe, im letzteren die Emulsion vorzuziehen.

Matouschek (Wien).

Quaintance, A. L., The mediterranean Fruit-fly. (U. S. Depart. of Agricult. Bur. of Ent. Circ. 160. 1912.)

Geschichtliche Daten über das Auftreten der Bohrfliege *Ceratitis capitata* Wied. Notizen über die befallenen Pflanzenarten und die Verbreitung des Schädling. Bekämpfung: Rasches Vernichten der Fallfrüchte, Vergiften der Fliegen durch Überbrausen der befallenen oder gefährdeten Bäume mit Bleiarsenat nach der Methode von Berlese. In die Fanggefäße gebe man Kerosenöl, welches die Fliegen anlockt.

Matouschek (Wien).

Quaintance, A. L., Jenne, E. L., Scott, E. W. and Braucher, R. W., The one-spray method in the control of the Codling moth and the plum curculio. (U. S. Dep. of Agr. Bur. of Ent. Bull. 90. Part. VII. 1912.)

Es kommt namentlich darauf an, die sich eben schließende Kelchgrube nach dem Blütenblattfall ausgiebig mit der giftigen Spritzflüssigkeit (Blei-

arsenat oder dieses mit Bordeauxbrühe) zu bespritzen. Man kann auch diese durch Schwefelkalkbrühe ersetzen. Leiden die Obstbäume zugleich durch Pilze, dann muß mehrmals gespritzt werden.

Matouschek (Wien).

Norton, J. B. S., Jonathan fruit spot. (Phytopath. Vol. 3. 1913. p. 99.)

Äpfel und Birnen, die mit Formaldehydgas behandelt werden, zeigen unter den Lentizellen kleine schwarze Flecken; dasselbe Krankheitsbild wird auch durch Ammoniakdämpfe hervorgerufen. Die Apfelsorten verhalten sich gegenüber der Einwirkung der Gase verschieden empfindlich.

Riehm (Berlin-Dahlem).

Baker, Sarah M., Note on a new treatment for silver-leaf disease in fruit trees. (Annals of Botany. 1913. p. 172.)

Wahrscheinlich ist *Stereum purpureum* die Ursache der Silberkrankheit der Obstbäume. Verf. fand Mycelien in den abgestorbenen Zweigen. Der Pilz bildet Gewebsteile aus, die durch jene Enzyme, welche behufs Auflösung der Gewebsteile des Wirtes ausgeschieden werden, nicht zerstört werden. Umgekehrt greift ein Enzym, welches das Pilzgeflecht zerstören kann, den Wirt nicht an. Eine wäßrige Lösung des in den Fruchtkörpern von *Coprinus* vorhandenen Enzymes wurde in die Hypodermis und in die Fruchtkörper des *Stereum* eingeführt. Der Pilz trat zurück, die Krankheit des Baumes wurde teilweise geheilt.

Matouschek (Wien).

Essig, E. O., The natural Enemies of the Citrus Mealy Bug. IV. (Pomona College Journ. of Entomol. III. p. 518—522.)

Die in letzter Zeit nach Kalifornien eingeführten Coccinelliden: *Rhizobius lopanthæ* Blaisd., *Hyperaspis lateralis* Muls. und *Scymnus sordidus* Horn., stellen diversen schädlichen Schildläusen nach, z. B. *Pseudococcus citri* (Citrus Mealy bug), *Aspidiotus nerii* B. et Melb. (Oleander Scale), *Chrysomphalus aurantii* (Red scale), *Chr. citrinus* (Yellow Scale), *Aspidiotus perniciosus* (San Jose Scale), *Lepidosaphes beckii* (Purple Scale) usw. Die Schlupfwespe *Chrysoplatycerus splendens* How., von den Philippinen eingeführt, bewährt sich ebenfalls gut. — Alle die genannten Tiere werden beschrieben und abgebildet.

Matouschek (Wien).

Morill, W. and Back, E. A., Natural control of white flies in Florida. (U. S. Dep. of Agric. Bur. of Ent. Bull. 102. 78 pp. 9 tabl.)

Mehrjährige Erfahrungen zeigten, daß die künstliche Verbreitung von insektentötenden Pilzen (*Aegerita Webberi* F., *Aschersonia aleyrodii* Webb., *A. flavocitrina* P. Henn., *Sporotrichum* sp. usw.) gegen die Mottenschildläuse auf Citrus-Bäumen einen geringen Erfolg brachten. Man muß also wieder zu den chemischen Mitteln greifen.

Matouschek (Wien).

Hiltner u. Korff, Neue Vorbeugungs- und Bekämpfungsmaßnahmen gegen den amerikanischen Stachelbeermehltau. (Prakt. Blätter f. Pflanzenb. u. Pflanzenschutz. 1913. p. 73.)

Durchgeführte eigene Versuche der Verf. empfehlen folgenden Bekämpfungszyklus:

Abschneiden und Verbrennen aller befallenen Teile des Strauches, even-

tuell Ausrotten der sehr stark befallenen Stücke. Bespritzung der Pflanzen mit 0,4—0,5-proz. Schwefelkaliumlösung oder (noch besser) mit 2-proz. Kupfervitriolkalkbrühe. Doch muß während des Sommers 2—3mal gespritzt werden. Im Spätherbst starker Rückschnitt und sorgfältiges Sammeln und Verbrennen aller abgefallenen oder abgeschnittenen Pflanzenteile. Hernach Bespritzung der Pflanzen mit 2-proz. Kalkmilch. Den Boden bestreue man mit Ätzkalk und bringe ihn leicht unter. Im nächsten Frühjahr Kalkung des Bodens und Bespritzung mit Kalkmilch zu wiederholen. Im Herbst ist eine Düngung zu geben: 8—10 kg Kainit oder 2,5—4 kg 4-proz. Kalisalz und 5—7,5 kg Thomasmehl. Düngt man im Frühjahr, so gebe man statt dessen 3,5—5,5 kg Superphosphat.

M a t o u s c h e k (Wien).

Marsh, H. O., The imported cabbage web worm. (U. S. Dep. of Agric. Ent. Bur. of Bull. 109. P. III. 1912. 22 pp.)

Groß ist der Schaden, den der kohlschädliche Zünsler *Hellula undalis* Fab. auf Hawaii hervorgebracht hat. Als Bekämpfungsmittel werden angeführt: dichte Pflanzung und baldiges Verbrennen der stark befallenen Kohlpflanzen, das Fernhalten von Unkraut (besonders Cruciferen), tiefes Pflügen im Herbst; anderseits Fanglampen zum Falterfang, Petroleumemulsion und Bordeauxbrühe, mit oder ohne Zusatz von Arsen, gegen die Raupen.

M a t o u s c h e k (Wien).

Hyslop, J. A., The legume pod moth. (U. S. Dep. of Agric. Bur. of Ent. Bull. 95. P. VI. 1912.)

Etiella zinckenella schisticolor Zell. frißt als Raupe die Samen der Hülsen diverser Schmetterlingsblütler (Erbse, Lupine usw.) auf. Daneben treten, in gleicher Weise schädigend, die Maden von *Pegomya planipalpis* (Fliege) auf. Gegen beide empfiehlt Verf. die Behandlung des Saatgutes mit Schwefelkohlenstoff. Die Parasiten beider Schädlinge werden notiert.

M a t o u s c h e k (Wien).

Naumann, Gibt es ein Mittel zur Bekämpfung der Kropfkrankheit? (Der Handelsgärtner. 1912.)

Verf. gibt eine kurze Lebensbeschreibung der Kohlhernie, geht alsdann auf die Bekämpfungsmaßnahmen ein und bespricht im besonderen das von A. Steiner in Sonneberg zum Patent angemeldete Mittel. Das Steiner'sche Bekämpfungsverfahren beruht auf dem Einbringen einer kalkhaltigen Erdmischung in den verseuchten Boden. Die Mischung selbst ist noch des Erfinders Geheimnis. Sie enthält etwa ein Drittel gebrannten Kalks. Das Mittel hat sich bei einwandfreien Versuchen bewährt, und es darf als erwiesen gelten, daß es die Herniekeime mit Sicherheit abtötet und die ungünstige Wirkung starker Kalkung aufhebt. Nach einer Berechnung des Verf. muß die Anwendung des Steiner'schen Mittels jedoch an den viel zu hohen Kosten scheitern. Es mag vielleicht für kleinere Gemüsebaubetriebe verwendbar sein, nicht aber für größere Ländereien. Vogel (Bromberg).

Kroemer, K., Wege und Ziele des neuen Weinbaues. (43. Bericht d. Senckenberg. Naturforsch. Gesellsch. in Frankfurt a. M. 1912. p. 140—142.)

Geschichtliche Daten über das erste Auftreten und die allmähliche Verbreitung von *Oidium Tuckeri*, *Peronospora viticola* und

der Reblaus. Bezüglich der letzteren erwähnt Verf., daß im Verlauf der letzten 35 Jahre nur 0,6 Proz. der deutschen Weinbaufläche der Vernichtung anheimfiel. Die Kosten des deutschen Verfahrens (Schwefelkohlenstoff-Anwendung) sind im Verhältnisse zum jährlichen Ertragswerte unseres Weinbaues und gegenüber den riesigen Verlusten der Nachbarländer gering. Der Anbau immuner Reben kommt für die Qualitätsweinbaugebiete Deutschlands vorerst nicht in Betracht.

Die Hauptaufgabe der nächsten Zeit ist darin zu erblicken, die einheimischen bewährten Traubensorten der Ausselezüchtung zu unterwerfen, um Reben zu gewinnen, die ertragsicher und in der Immunität gegen Pilzkrankheiten und tierische Schädlinge den neuen Verhältnissen besser angepaßt sind als die Bestände der alten Weinberge.

Matouschek (Wien).

Pantanelli, E., Esperienze sul ripianto di vigne americane e sue conseguenze. (Stazioni speriment. agrarie. Vol. 45. 1912. p. 753—807.)

Nach den Versuchen des Verf. (die in Südostsizilien ausgeführt wurden) bewurzeln sich gleich nach der Ausrottung anderer Amerikaner oder einheimischer Weinstöcke gepflanzte Amerikanerreben sehr schlecht; den größten Schwierigkeiten begegnet man, wenn dieselbe Sorte zweimal nacheinander gebaut wird. Einige Sorten, wie *Rupestrис du Lot* und überhaupt *Rupestrис*-Sorten, zeigen sich in dieser Hinsicht sehr empfindlich. Es werden nur wenige, dünne Wurzeln angelegt, die ihr Wachstum nach kurzer Verzweigung bald einstellen. Unter diesen Umständen tritt die Verkräuselung der Sprosse im zweiten Pflanzungsjahre auf, war auch das angewandte Setzholz vollkommen normal, und zwar ebenso leicht, wenn der ausgerottete Weinberg von der Kräuselkrankheit verseucht war oder nicht.

Winterliche Gründüngung mit Feldbohnen bewirkt eine starke Verpilzung der zurückgebliebenen Wurzelreste der ausgerotteten Stöcke, verschlechtert daher den Boden, ein- bis zweijährige Graskultur ruft dagegen eine starke oxydative Zersetzung der Wurzelreste hervor, wodurch der Boden schließlich gereinigt wird. Pflanzung zwischen den Reihen und Absenken geben mit empfindlichen Amerikanersorten meistens keine oder eine sehr schwache Bewurzelung.

Die Hemmung der Wurzelbildung und des Wurzelwachstums, die Mißbildung der Wurzelendigungen, die Verzweigung der Sprosse treten bei der sofortigen Rekonstruktion ebenso wie bei der interkalaren Pflanzung ohne direkte Infektion von Wurzelpilzen auf. Im Setzlingsgarten, wo jährlich eine außerordentlich reiche Menge von Wurzelresten im Boden verbleibt, kommen dieselben Erscheinungen vor.

Man kann dieselben Mißbildungen des Wurzelsystems, folglich auch die Sproßverzweigung, künstlich hervorrufen, indem man dem Boden viele lebende unverpilzte Wurzelstücke aus Reben derselben Sorte einverleibt.

Chemische und physikalische Analysen, Messungen der Bodentemperatur und -Feuchtigkeit zeigten, daß es sich nach der Ausrottung eines Weinberges kaum um Erschöpfung der Bodennährstoffe oder um eine Verschlechterung der physikalischen Bodeneigenschaften, wohl aber um Beeinflussungen biologischen Ursprunges handelt. Früher mitgeteilte Versuche mit sterilisierten Böden hatten ergeben, daß es sich bei der langsamen Autolyse der zurückgebliebenen Rebenwurzelfragmente das Wurzelwachstum der neugepflanzten Reben hemmende Stoffe bilden und im Boden herumdifundieren. Darum

pfllegt die Verderbung in kolloidreichen oder sonstwie sehr feinen Böden längere Zeit erhalten zu bleiben, während krümelige oder leichte Böden in kurzer Zeit infolge der Oxydation und Auswaschung der schädlichen Stoffe für die Neupflanzung von Amerikanerreben wieder geeignet werden.

Zuletzt führt Verf. verschiedene Tatsachen und Versuchsergebnisse an, welche den Zusammenhang zwischen Wurzelstörung und Sproßverkräuselung (Roncet) nachweisen sollen.

P a n t a n e l l i (Rom).

Pfeiffer, F., Ergänzungsbericht zu „Versuche zur Bekämpfung der Rebschädlinge in Hessen im Jahre 1912“. (Hess. Obst-, Wein-, Gemüse- u. Gartenbauzeitg., Beibl. d. Hess. landwirtsch. Zeitg. 1913. p. 37—38.)

Die Schwefelkohlenstoff-Nikotin-Schmierseifenlösung bei mehrmaliger Nachbehandlung mit Nikotinschmierseife wurde auf einer Parzelle Mitte Juni 1912 angewandt. Es zeigte sich sehr geringer Befall durch den Traubenwickler. Layko-Trockenstaubpräparate erwiesen sich fast erfolglos. Ebenso versagten bei der Bekämpfung der *Peronospora* und des *Oidium* die pulverförmigen Mittel Pulvazuro, Azurin, Laykoschwefel.

M a t o u s c h e k (Wien).

Martin, Fr., Contre le court-noué. (La Terre Vaudoise. 1913. p. 127.)

Recht guten Erfolg brachte gegen die Kräuselkrankheit des Weinstockes eine 3-proz. Polysulfidlösung im Frühjahr 1912. Verf. preist dieses Mittel an und zeigt, daß bei Nichtanwendung desselben der Minderertrag ein bedeutender werden kann.

M a t o u s c h e k (Wien).

Schellenberg, H., Zur Bekämpfung der Milbenkräuselerkrankheit. (Schweizer. Zeitschr. f. Obst- u. Weinb. 1913. p. 91—92.)

Wenn auch Schwefelleber und Polysulfure gleich guten Erfolg zeigen, so ist doch letzteres Mittel jetzt um 7 Proz. billiger als das erstere. Die 3-proz. Lösung ist in warmem Wasser aufzulösen. Man kann mit Polysulfure 150 bis 250 Stöcke pro Stunde bepinseln. Das Bepinseln ist dem Bespritzen vorzuziehen.

M a t o u s c h e k (Wien).

Audebert, O., La défense contre l'Altise, la Cochylis et l'Eudémis. État actuel de la question. (Rev. de viticult. T. 37. 1912. p. 71.)

Die Anwendung der in den letzten Jahren zur Traubenwicklerbekämpfung empfohlenen Spritzflüssigkeiten (Nikotin- und Arsenpräparate usw.) ergibt nach Verf. in der Praxis viel ungünstigere Resultate, als man nach den ersten Ergebnissen in kleineren Versuchspartzen erwarten mußte. Besseren Erfolg verspricht er sich vom Mottenfang mit Fanglampen und Fanggläsern. Etwas besser wirkten die genannten Spritzflüssigkeiten gegen *Altica ampelophaga*.

Die Frage nach den zweckmäßigsten Bekämpfungsmethoden gegen die wichtigsten Rebeninsekten ist also noch keineswegs geklärt.

O. S c h n e i d e r - O r e l l i (Wädenswil).

Fron, G., Note sur quelques Mucedinées observées sur *Cochylis ambiguella*. (Bull. Soc. Mycol. France. T. 27. p. 482—487. pl. XIX.)

Auf *Cochylis* wurden folgende Pilze beobachtet:

Zweite Abt. Bd. 42.

14

Botrytis Bassiana Bals. [*Spicaria Bassiana* (Bals.) Vuill.], *Spicaria verticillioides* nov. sp., *Verticillium heterocladium* Lenz., und *Citromyces glaber* Wehmer.

Die neue Art wird eingehend behandelt und in einer lateinischen Diagnose wiedergegeben. L a k o n (Tharandt).

Fron, G., Sur une Mucédinée de la Cochylis. (2^e note.) (Bull. Soc. myc. France. T. XXVIII. p. 151—154.)

Verf. berichtet über seine weiteren Beobachtungen an dem Insektenpilz *Spicaria verticillioides*, den er auf *Cochylis* und *Polychrosis* (Traubenwickler) aufgefunden hat. Der Pilz bildet unter Umständen koremienartige Stromata und ist in dieser Wuchsform als eine *Itaria* anzusehen; er ähnelt in hohem Maße *Itaria farinora*, ist aber von dieser deutlich verschieden. Die vorliegende Art ist als eine Varietät von *Itaria farinora* anzusehen und wird, nach dem Vorgehen von Constantin und neuerdings von Vuillemin, *Spicaria farinora verticillioides* benannt. Der Pilz wird auf Grund der erneuerten Beobachtungen des Verfs. näher beschrieben. L a k o n (Tharandt).

Gayon, U., et Lafforgue, G., L'Altise. Rapport sur les travaux de la Commission de la Gironde pour l'année 1911. (Rev. de viticult. T. 37. 1912. p. 841.)

Es wurde in der Gironde (Bordeaux) im Sommer 1910 eine Kommission eingesetzt zum Studium der Biologie und der Bekämpfung des Rebenerdflohkäfers (*Haltica ampelophaga*), der sich seit 1900 in den dortigen Weinbaugebieten sehr stark vermehrte. Verff. berichten hier nun über die Tätigkeit dieser Kommission im Jahre 1911 und veranschaulichen die Verbreitung des Rebenschädling an Hand einer farbigen Karte.

Die Lebensweise wurde von Feytaud näher studiert. Der Käfer überwintert als Imago besonders in Schlupfwinkeln des Weinbergbodens, seltener unter Rindenschuppen an den Reben selber. Zeitig im Frühjahr kommt er hervor und macht sich an die jungen Triebe und legt die Eier an die Unterseite der Blätter. Die ausgeschlüpften Larven nähren sich vorerst vom Parenchym der Blätter und lassen die Epidermis der Blattoberseite stehen, später begeben sie sich aber auch an die jungen Gescheine und auf die Oberseite der Blätter. Sie verpuppen sich im Boden. Die zweite Käfergeneration benagt die Blätter und Traubchen und schreitet bald wieder zur Eiablage. Es kommen in der Gironde gewöhnlich zwei Generationen zur Entwicklung, während für Algerien 4—6 Generationen pro Jahr angegeben werden.

Bei sehr starkem Befall bleiben von den Blättern nur die Blattnerven stehen.

Zur Bekämpfung wurden einerseits Versuche mit Fangapparaten, andererseits mit verschiedenen Spritzflüssigkeiten durchgeführt. Am wirksamsten waren Bespritzungen mit Bordeauxbrühe, der man pro hl 1½ Liter 10-proz. Nikotinlösung zugefügt hatte. Bei sehr starker Invasion müssen damit sowohl die Käfer schon vor der Eiablage als auch die Larven der ersten Generation bespritzt werden. Die Verff. empfehlen, bei der ersten Bespritzung so vorzugehen, daß jeweils nur etwa 15 Reihen nebeneinander bespritzt werden und daneben je 5 Reihen unbespritzt bleiben; die übrig bleibenden Käfer konzentrieren sich dann auf die unbehandelten Reben und können hier mit Fangtrichtern oder Leimbrettchen eingesammelt werden.

O. S c h n e i d e r - O r e l l i (Wädenswil).

Feytaud, J., La Punaise bleue. (Bull. de la Soc. d'études et de vulgaris. de la zool. agric. 1911. p. 188—194.)

Zicrona coerulea L. („blaue Wanze“) ist recht nützlich für folgende Schädlinge des Weinstockes: *Haltica ampelophaga* G. M., andere Halticiden- und Chrysomelidenlarven (z. B. *Adimonia capreae*, *Galerucella luteola*, *Phaedon*, *Plagioder*) und die Raupe von *Cochylis*. An größeren Raupen des letzterwähnten Tieres wurde die blaue Wanze nur selten bemerkt. Die Figuren illustrieren die Entwicklungsstadien der Wanze. Matouschek (Wien).

Pointu, E., Les traitements contre le Mildiou (de la Vigne). (La Coopération agric. 1913. No. 11.)

L'auteur conseille d'employer le traitement cuivrique (bouillie cuivrique de Schloesing) pendant la pluie ou tout de suite après. Il insiste sur la nécessité de préparer la bouillie sur place, en utilisant des produits en poudre, versés dans l'eau au moment de l'emploi. Il faut aussi que ces bouillies soient très adhérentes. Kufferath (Bruxelles).

Berlese, A., Come progredisce la *Prospaltella Berlesei* in Italia. (Redia. VII. p. 436—461.)

Bis 1911 war *Prospaltella Berlesei* in 10 000 Ortschaften Italiens schon eingeführt worden, um die Maulbeerbaumschildlaus (*Diaspis pentagona*) zu bekämpfen. Die neue Hilfe hat sich in Oberitalien vollkommen bewährt, obwohl der strenge Winter die jährliche Vermehrung um eine Generation vermindert; im übrigen widersteht *Prospaltella* im Ruhezustand auch einer Kälte von -12°C . Jährlich schreitet die *Prospaltella* etwa 1 km um den Einführungspunkt fort. Übrigens verhält sich die *Prospaltella* in allen Gegenden beinahe gleich, so daß Verf. das baldige Verschwinden der Schildlaus prophezeit und den Landwirten von der offiziellen Bekämpfungsmethode mit Teeröl und sonstigen Behandlungen abrät. Pantanelli (Rom).

Chaine, J., Traitement des Buis contre le *Monarthropalpus buxi* Lab. (Compt. rend. de la Soc. de Biol. T. LXXIV. 1913. p. 156).

C. conseille pour détruire cette *Cécidomye* de saupoudrer les feuilles de fleur de soufre après les avoir mouillées au moyen d'un vaporisateur. Cette opération doit être faite au moment de la ponte. Les feuilles présentant des galles seront coupées aux mois de janvier, février.

H. Kufferath (Bruxelles).

Wichgraf, F., Der Kampf gegen Kulturschädlinge in Amerika. (Deutsch. Obstbauzeitg. 1913. p. 101—104.)

Der 91. Bericht von Howard und Fiske (Entom. Bur. des Ackerbaudepart.) wird auszugsweise wiedergegeben. Er beschäftigt sich mit der biologischen Bekämpfung der Pflanzenläuse durch Coccinelliden und mit der des Goldafters und Schwammspinners durch seine natürlichen Feinde. Verf. meint, daß die amerikanischen Bekämpfungsmethoden in Deutschland und in dessen Kolonien sinngemäß, mehr als bisher, zu berücksichtigen wären. In einem Anhang berichtet G. Lüstner über den Nutzen des Weberknechtes (*Phalangium opilio*) bei der Vertilgung von Blattläusen

und ähnlichem Ungeziefer und über das Versagen der Marienkäferimportierung gegen den Heu- und Sauerwurm. Matouschek (Wien).

Smith, H. S., The Chalcidoid genus *Perilampus* and its relations to the problems of parasite introduction. (U. S. Dep. of Agr. Bur. of Ent. Techn. Ser. 19. Part. IV. 1912.)

Perilampus hyalinus Say. ist ein Parasit vieler nützlicher Insektenschmarotzer (z. B. *Limnerium validum*). Speziell richtet er seine Angriffe als Hyperparasit auf die Parasiten der *Hyphantria textor* Harr., und zwar besonders auf die Tachinide *Varichaeta*. *Perilampus cuprinus* greift aber die Parasiten von *Porthetria dispar* und *Euproctis chrysorrhoea* und da speziell die Tachinide *Blepharipa scutellata* an. Beide *Perilampus*-Arten können also mitunter die künstliche Verbreitung der Insektenschmarotzer, die gegen die oben genannten Schädlinge wirken sollen, eindämmen.

Matouschek (Wien).

Burill, A. C., Economic and biologic Notes on the giant Midge, *Chironomus (Tendipes) plumosus* Meigen. (Bull. of the Wisconsin Nat. Hist. Soc. Vol. 10. p. 124—163.)

Zu Madison und Süd-Oshkosh (Wisconsin) wurden August 1912 Schwärme des genannten Insekts (Dipter.) von dem Pilze *Empusa culicis* befallen und vernichtet. Der Pilz war 1905—1906 im Gebiete auch häufig.

Matouschek (Wien).

Russel, H. M., The greenhouse Thrips. (U. S. Depart. of Agric. Bur. of Ent. Circ. 151. 1912.)

Heliothrips haemorrhoidalis Bché. wird beschrieben und der Schaden auf *Croton* abgebildet. Gegenmittel: Räuchern mit Nikotin-papier, verdünntem Tabakextrakt und Blausäure, ferner das Bespritzen mit Tabakextrakt, Petroleumemulsion oder starkem Wasserstrahl und zwar in je 7—10 Tagen wiederholt. Bei Freilandbäumen würde sich empfehlen Tabakextrakt und Ölemulsion.

Matouschek (Wien).

Russel, H. M., An internal Parasite of Thysanoptera. (U. S. Depart. of Agric. Bur. of Ent. Techn. Ser. 1912. No. 23, P. II.)

Aus *Heliothrips fasciatus* Perg. (Bohnenblasenfuß) und auch aus *Thrips tabaci* Lindem. und *Euthrips tritici* Fitch. erhielt Verf. den Chalcidier *Thripoctenus russeli* Crawf. Die Entwicklungsdauer des Parasiten beträgt 33 Tage. Winke über die Aufzucht und die künstliche Verbreitung des nützlichen Schmarotzers.

Matouschek (Wien).

Störmer, K., u. Kleine, R., Die Drahtwürmer. (Illustr. Landw. Zeitung. Jg. 32. 1912. p. 393.)

Die Drahtwürmer (in ihrer Lebensweise ähnlich derjenigen der Engerlinge) ernähren sich im Boden vorwiegend von lebender Pflanzensubstanz, und zwar sowohl von Wurzeln als auch von Stengelteilen. Gefährdet sind vor allem die Sommergetreidearten (Gerste, Hafer, Sommerweizen), ferner Rüben und Kartoffeln. Im übrigen verschmähen sie kaum irgendeine der Kulturpflanzen. Am meisten wird geklagt über den Fraß an Gerste und Hafer. Zur Bekämpfung der Drahtwürmer ist das Auslegen von Kartoffelstücken als Köder erst in letzter Linie zu empfehlen. Vorher kommen zwei andere Mittel in Betracht: die Festigung des Bodens durch Walzen und die

Kopfdüngung mit ätzenden Stoffen, also mit Kainit und Ätzkalk. Durch das Walzen, also starkes Festdrücken des Bodens, wird der Drahtwurm in seiner Bewegungsfreiheit gehindert. Kainit in der Menge von 4—6 Zentner pro Morgen ist gleichzeitig auch gegen die Unkräuter sehr wirksam, beschädigt aber zarte Pflanzen. Dagegen erscheint dieses Mittel besonders bei Rüben (in 2 Gaben) angebracht. Die zu fürchtende Verkrustung des Bodens fällt weg, wenn man entweder einen gepulverten Ätzkalk in der Menge von 6—10 Zentnern oder ein Gemenge von Ätzkalk und Kainit anwendet. Die auch empfohlene Anwendung des Chilisalpeters wirkt nur fördernd auf das Wachstum der Pflanzen ein, ohne dem Drahtwurm zu schaden. Da der Drahtwurm zu große Feuchtigkeit nicht liebt, und daher bei Regenwetter in die Tiefe geht, liegt darin der beste Schutz gegen die Drahtwurmlage.

Stift (Wien).

Hyslop, J. A., The false Wireworms of the Pacific Northwest. (U. S. Dep. of Agric. Bur. of Ent. Bull. 95. Part V. 1912.)

Die „unechten Drahtwürmer“ (Larven von *Eleodesletcheri vandykei* Bl. und *E. pimelioides* Mann) schädigen dieselben Pflanzenarten in gleicher Weise wie die „echten Drahtwürmer“ (von Elateriden). Vögel fressen beiderlei Schädlinge. Gegenmittel sind: Sehr frühes Eggen, sehr spätes Tiefpflügen (Juli-August) der Sommerbrache. Beizungen des Saatgutes brachten nie einen Erfolg.

Matouschek (Wien).

Kurdjumov, N. V., Hyménoptères parasites nouveaux ou peu connus. (Rev. Russe d'Entomol. T. XII. 1912. p. 223—240). [Französisch].

Als neu wurden folgende Parasiten hingestellt:

Rhoptromeris widhalmi (Figitidae, gezogen aus *Oscinella frit* L.); *Phaeogenes plutellae* (Ichneumonidae, gezogen aus *Plutella maculipennis*); *Cryptus mokrzeckii* (verwandt mit *C. genalis* Tschek., gezogen aus *Cetonia* sp.); *Apanteles plutellae* (Braconidae, gezogen aus *Plutella maculipennis*); *Ap. hiberniae* (gezogen aus *Hibernia defoliaria* Cl.); *Gyrocampa pospelovi* (Alysidiidae, gezogen aus *Oscinella frit*); *Pteromalus pospelovi* (gezogen aus *Agrilus hastulifer*); *Habrocyrtus microgastris* (gezogen aus *Apanteles glomeratus* L. und *A. pieridis* Bouché); *Sphex gigaster orobanchiae* (gezogen aus *Phytomyza orobanchae* Kalt.); *Neochrysocharis* n. g. mit *N. immaculatus* n. sp. (gezogen aus *Oscinella frit*) und *N. albipes* n. sp. (gezogen aus der Larve von *Pimpla graminella* Gr.); *Tetrastichus coccinellae* (gezogen aus den Larven von *Coccinella septempunctata*); *T. sokolowskii* (gezogen aus einem Ei von *Apanteles plutellae*).

Diese neuen Genera bzw. Arten wurden durchwegs an verschiedenen Orten Rußlands gezogen. — Die Arbeit enthält auch viele kritische Bemerkungen zu schon bekannten Arten.

Matouschek (Wien).

Paoli, Guido, Nuovi Laboulbeniomiceti parassiti di Acari. (Malphigia. XXIV. 1912. p. 329—340.)

Es werden mit lateinischen Diagnosen beschrieben:

Rickia javanica n. sp., habitat super Acarum Gamasidem *Pachylaelaps* (*Onchodellus*) *spectabilis* in Java;

R. coleopterophagi n. sp., super Acarum Gamasidem *Coleopterophagus procerus* Berl. in India;

R. minuta n. sp., super Acarum Gamasides *Holocaeleno rotunda* Berl. in Texas;

R. berlesiana (Bacc.) Paoli [= *Rhacomyses berlesiana* Bacc.] super *Acaros Gamasides Fedrizia grossipes* Berl. et *Fedrizia gloriosa* Berl. in Australia;

Dimeromyces mucronatus n. sp., super *Acarum Gamasidem Canestrinia spectandra* Berl. parasitum super *Dorcus bucephalus* in Java;

D. falcatus n. sp., super *Acarum Gamasidem Canestrinia dorcicola* Berl. var. *pentodontis* Berl. parasitum super *Pentodon punctatus* prope Pisas (Italia);

D. muticus n. sp., super *Acarum Gamasidem Canestrinia neglecta* Berl. parasitum super *Scarabaeus centaurus* in Afrika.

Die Tafel bringt die neuen Pilze.

Matouschek (Wien).

Moore, W., Notes on the Life History of several Species of Aphides. (The Agric. Journ. of the Union of South-Africa. IV. Pretoria 1912. p. 425—428.)

Schizoneura lanigera (Blutlaus) wird im Gebiete mittels Schwefelkalkbrühe zu Beginn oder Ende Winter bekämpft. Gegen *Aphis persicae-niger* (schwarze Pfirsichblattlaus) und gegen *Siphonophora citrifolia* (Citrus-Blattlaus) bringt Tabakextraktseifenmischung im ersten Frühlinge (Anfang September) den besten Erfolg.

Matouschek (Wien).

Freyhold, von, Zur gründlichen Vertilgung der Wolllaus an Topfgewächsen. (Erfurter Führer i. Obst- u. Gartenb. 1913. p. 372—373.)

Verf. meint, daß die Wollläuse sich nachts auf Opuntien, Phyllokakteen und *Amaryllis* verteilen. Tabaksaft-Bepinselung nützt. Das „Absammeln mit einer glühenden Pinzette“ ist im großen aber undurchführbar.

Matouschek (Wien).

Blanc, G. R., Revue générale de la famille des Tarsonémides. (Bull. de la Soc. d'Études et de vulg. de la Zool. agric. 1912. p. 153—163, 6 Zig.)

Pediculoides ventricosus wird eingehend besprochen; er lebt auf verschiedenen Insekten als Parasit, und zwar auf solchen zumeist, die Pflanzenschädlinge sind, z. B. auf der Raupe von *Phthorimaea operculella*. Gelegentlich geht die Milbe auch auf den Menschen über.

Matouschek (Wien).

Webster, R. L., Spraying with Linseed Oil Wash for the Oyster Shellscale. (Journ. of Econ. Entom. 1911. p. 202.)

1. Gegen die genannte austernförmige Schildlaus verwendete Verf. mit bestem Erfolge folgende Mittel:

1 Pfund harte Seife,
1 Gallone Leinöl (roh),
auf 12 Gallonen Wasserrest.

2. Preis per Gallone Spritzflüssigkeit nur 9 cts.

Das Mittel haftet sehr gut, die Blätter werden durch das Spritzmittel nicht geschädigt.

Matouschek (Wien).

d'Herelle, F., Sur une épizootie de nature bactérienne sévissant sur les sauterelles au Mexique. (Compt. Rend. de la Soc. Paris. T. 152. p. 1413.)

Auf Yucatan hat Verf. 1910 aus toten Heuschrecken einen Coccus isoliert, der sich im Darmkanal in fast reinen Kulturen befand. Die Einimpfung desselben in gesunde Tiere ruft eine Krankheit hervor. Der Coccus ist ein fakultativer Aërobier, der zunächst die Bouillon trübt und einen Schleier bildet und auf der Gelose weißliche, klebrige und durchscheinende Kolonien bildet. Er färbt sich auf die gewöhnliche Art und Weise, nicht mit

Gram und zeigt ovoide Formen von $0,5\ \mu$ und verlängerte Formen von $0,5 \times 1,00\ \mu$. Der Coccus ist nicht pathogen für das Huhn, das Meerschweinchen und Kaninchen. Matouschek (Wien).

Geret, L., Heuschreckenplage in Uruguay und ihre Bekämpfung. (Kosmos. 1913. p. 104—106.)

Nahe der bolivischen Grenze befindet sich der Heuschreckenherd der argentinischen Verseuchung. Die schädlichsten Arten und das Eintreiben der Schrecken längs aufgestellter Blechstreifen in Gruben werden abgebildet. F. d'Herelle erzielte durch *Coccobacillus acridarum* n. sp. auch in letzterer Zeit beste Erfolge im Freien. Matouschek (Wien).

Kuppke, Vertilgung der Maulwurfsgrille oder Werre in den Saatkämpen. (Zeitschr. d. Landwirtschaftskamm. f. d. Prov. Schlesien. 1912. p. 1493.)

Als Bekämpfungsmittel empfiehlt Verf. besonders das Eingießen von Wasser und Lein- oder Maschinenöl in die Gänge.

Matouschek (Wien).

Heikertinger, Franz, Zur Praxis des Käferfanges mit dem Kätscher. (Wien. entomol. Zeitg. Jg. 30. p. 227—233, 247—261.)

Mit diesem in neuerer Zeit verschmähten altbekannten Instrumente fand Verf. viele Schädlinge auf Kulturpflanzen und wildlebenden, z. B. *Psylliodes affinis* Payk. (gelber Flohkäfer), der zu Hunderten im Herbst die Blätter der Kartoffelpflanze skelettiert. Er behauptet, daß es nur mit dem Kätscher möglich ist, die Feinde vieler Pflanzenspezies zu fangen. Matouschek (Wien).

Mac Dougall, Stewart R., Mustart Beetles. (The Journ. Board of Agricult. Vol. 18. p. 1017—1020.)

Biologische Daten über *Phaedon betulae* Küst. und *Meligethes aeneus* Fab., deren Entwicklung auch besprochen wird.

Bekämpfungsmittel: Sammeln der Käfer in Gefäßen, Spritzen mit Bleiarsenat behufs Vertilgung der Larven und Ziehen von Gräben.

Matouschek (Wien).

Russel, H. and Fet, Johnston, The Life History of *Tetrastichus asparagi* Crawford. (Journ. of Econ. Entomol. Vol. 5. 1912. p. 429—433.)

Das genannte Insekt ist ein Parasit des Spargelkäfers; es legt seine Eier in der Zahl 1—9 in die Eier des Wirtes. Die letzteren entwickeln sich bis zur Puppe, erst dann verläßt der Parasit seinen Wirt. Matouschek (Wien).

Catoni, Giulio, Parassiti dell'*Anthonomus pomorum* (L.), osservato in Valle di Non [Trentino]. (Boll. dell' Laborat. di zoolog. gener. et agragr. d. R. Scuola d'agricult. in Portici. Vol. 6. 1912. 10 pp.)

Besprochen werden *Pimpla pomorum* Rtz., *Meteorus ictericus* (Ness.), *Habrocytus fasciatus* Thoms., *Apantheles impurus* Ness. Die Schädlinge sind hier nach der Häufigkeit des Auftretens geordnet. Matouschek (Wien).

Inhalt.

Originalberichte über Kongresse, Versammlungen etc.

Society of American Bacteriologists.

Ayers, S. Henry and Johnson, William T., Jr., A synthetic Medium for the Determination of Colon Bacilli in Ice-Cream, p. 74.

Beckwith, T. D. and Vass, A. F., A possible improvement in the Technique of Determination of the ammonifying Power of Soils, p. 69.

Breed, Robert S. and Brew, James D., The Usefulness of dried stained Smears of Milk as a Means of Detering the Sanitary Quality of Milk, p. 71.

Brown, P. E., Bacterial Activities and Crop Production, p. 65.

— and **Kellog, E. H.**, Sulfocation in Soils, p. 67.

Conn, J. Joel, A new Medium for the quantitative Determination of Bacteria in Soil, p. 66.

Dallyn, D. A., Field Organization and Laboratory Technique Canadian Section. International Joint Commission Pollution Investigation, p. 72.

Derick, Carrie M., The Influence of the Hypochlorite Treatment of Water upon the Development of Algae, p. 73.

Evans, Alice C., and **Hastings, E. G.**, A Study of the Bacteria concerned in the Production of the characteristic Flavor in Cheese of the Cheddar Type, p. 74.

Hesselink van Suchtelen, F. H., The Environment of Soil Organisms, p. 65.

Jones, Dan H., B. S. A., Further Studies with some Azotobacter, p. 68.

Lipman, Chas. B., Antagonism between Salts as affecting Soil Bacteria, p. 67.

Northup, Zae, A bacterial Disease of the Larvae of the June beetle? *Lachnosterna* spp., p. 69.

Rogers, L. A., A satisfactory Platinum Needle, p. 75.

Thomas, J. Bosley and Sandman, Edgar A., A numerical Comparison of the Organisms producing Gas in Lactose Bile isolated from the Baltimore City Water Supplies, p. 70.

Winslow, C. E. A., Notes on the Bacteriology of Air and its Sanitary Significance, p. 71.

Referate.

Ainslie, G., The Cowpea Curculio, p. 152.

Anderlind, Wahrnehmungen über die Waldverhältnisse in der Gegend von Abbazia in Istrien und über das Verhalten mehrerer Holzarten gegen den Salzgehalt der Luft an den Klippen des Quarneros, p. 137.

Anonym, Hitzerisse, p. 141.

Arnaoudoff, N., Quelques cas tératologiques chez les mousses, p. 159.

Arnaud, G., Sur les genres *Zopfia*, *Richonia* et *Caryospora*, p. 111.

Arthur, J. C., Uredinales on *Carex* in North America, p. 121.

Back, E. A., Notes on Cuban White-Flies with Description of two new Species, p. 187.

Bainier, G., Mycothèque de l'École de Pharmacie, p. 81.

Bally, W., Die Chytridineen im Lichte der neueren Kernforschung, p. 112.

Banker, H. J., Type studies in the *Hydnaceae*: IV. The genus *Phellodon*, p. 119.

Barger, Al., *Sesia annellata* Z. und *S. empiformis* Esp., p. 151.

Baudyš, E., Drei neue durch Apion erzeugte Gallen, p. 169. [Tschechisch.]

—, Für Böhmen neue Gallen, p. 168. [Tschechisch.]

Bauer, A., Verzeichnis der Unkräuter des Gouvernements Wladimir, p. 179. [Russisch.]

Bayer, E., Gallenbildende Chermiden der Fichte und der Lärche, p. 165. [Tschech.]

Beauverie, J., État actuel de la question de la propagation des Rouilles, p. 117.

—, L'hypothèse du mycoplasma et les corpuscules métachromatiques, p. 118.

Bechhold, H., Die Kolloide in Biologie und Medizin, p. 82.

Bericht der Karstaufforstungskommission für die gefürstete Grafschaft Görz und Gradiska über ihre Tätigkeit für das Jahr 1911, p. 137.

Bernard, Noël, Sur la fonction fungicide des bulbes d'Ophrydées, p. 172.

v. Bersa, Über Karstaufforstungen in Krain und Küstenland, p. 137.

Bertrand, G., Sur le rôle capital du manganèse dans la formation des conidies de l'*Aspergillus niger*, p. 80.

Betts, A. D., A Bee-hive Fungus, *Pericystis alvei* gen. et sp. nov., p. 95.

—, The Fungi of the Bee-hive, p. 95.

Bezssonoff, N., Notice sur le développement des conidiophores et sur les phénomènes nucléaires qui l'accompagnent chez le „*Sphaerotheca Mors uvae*“ (Schwein. Berk. et Curt.) et le „*Microphaera Astragali*“ (s. *Erysiphe* Astr.) DC. Trev., p. 132.

Bier, A., Ein blutlausähnlicher Schädling unserer Topfpflanzen, p. 185.

Blackman, V. H. and Welsford, E. J., The Development of the Perithecium of *Polystigma rubrum* DC., p. 116.

Blakeslee, A. F., Conjugation in the heterogamic genus *Zygorhynchus*, p. 82.

Boldyrev, B. Th., *Tachycines asynamorus* und *Periplaneta australasiae* Fbr. in den

- Warmhäusern von Moskau, p. 156. [Russisch.]
- Bondarzew, A. S.**, Verzeichnis der von A. A. Elenkin und B. P. Sawitsch auf Waldbäumen an der Küste des Schwarzen Meeres im Sommer 1912 gesammelten Pilze, p. 139. [Russisch.]
- Borggardt, A. J.**, Über die Kernverhältnisse bei *Uredo alpestris*, p. 118.
- Borggreve**, Über einen Maserkropf, p. 161.
- Bornmüller, J.**, Mitteilungen aus der heimischen Flora, p. 159.
- Borthwick, A. W. and Wilson, M.**, A new Larch Disease in Scotland, p. 143.
- Boyd, D. A.**, Mycological Notes, p. 135.
- Braid, J. B.**, The sweet chestnut as a timber tree, p. 142.
- Brenckle, J. F.**, Fungi Dacotenses, p. 108.
- Breslau, A.**, A propos du dimorphisme sexuel des Mucorinées, p. 80.
- Brick, C.**, Einige Schutzvorrichtungen tropischer Farne gegen Vertrocknung, p. 177.
- Briosi, Giovanni**, Rassegna crittogamica per il secondo semestre dell' anno 1907, p. 101.
- , Rassegna crittogamica dell' anno 1908 con notizie sulle malattie dell' erba medica causate da parassiti vegetali, p. 102.
- Brooks, F. T.**, „Silver-leaf“ disease, p. 130.
- Brown, H. B.**, Studies in the Development of *Xylaria*, p. 112.
- Bubák, Franz**, Die Pilze Böhmens. T. II. Hemibasidii, p. 99. [Tschechisch.]
- , Ein Beitrag zur Pilzflora von Sachsen, p. 99.
- Buchner, P.**, Zur Kenntnis der Aleurodes-Symbionten, p. 183.
- Buscalioni, Luigi e Muscatello, Giuseppe**, Contribuzione allo studio delle lesioni fogliari, p. 161.
- Butler, E. J.**, On *Allomyces*, a new aquatic Fungus, p. 91.
- Cannon, W. A.**, Structural relations in xenoparasitism, p. 176.
- Cavara, F.**, Bacteriosi del Giaggiolo. (*Iris pallida* Lam.) Nota preliminare, p. 149.
- Čelakovský, Lad. Fr.**, Weitere Beiträge zur Fortpflanzungsphysiologie der Pilze, p. 78.
- Chalon, J.**, Anomalie chez l'*Araucaria excelsa* Carr., p. 159.
- Chevalier, H.**, *Agaricus melleus*, p. 113.
- Chittenden, F. H.**, A little known Cutworm, p. 147.
- , The Cowpea Weevil, p. 152.
- , The broad-bean Weevil, p. 146.
- Chittenden, Fred J.**, Bulbs destroyed by Grubs, p. 148.
- Cholodkovsky, N.**, Sur quelques insectes exotiques, p. 169.
- Clark, J. J.**, Abnormal Flowers of *Amelanchier spicata*, p. 160.
- Clements, F. E.**, Nova fungorum coloradensis genera, p. 108.
- Cobau, R.**, Altri cecidii della Valle del Brenta, p. 170.
- Cruchet, D., Mayor, E. et Cruchet, P.**, Contribution à l'étude de la flore cryptogamique du canton du Valais, p. 104.
- Dahlin, T.**, Über *Secale cornutum*, p. 123.
- Darnell-Smith, G. P.**, On the mode of dispersal of Irish Blight, p. 156.
- Del Guercio, G.**, Mezzi chimici e meccanici per ostacolare la diffusione del fleotripide dell' olivo, p. 131.
- Dewitz, J.**, Die Bedeutung der Physiologie für die Schädlingsforschung, p. 96.
- Diels, L.**, Der Formbildungsprozeß bei der Blütencecidie von *Lonicera*, Untergatt. *Periclymenum*, p. 165.
- Dixon, H. N.**, Abnormality of Moss Capsule, p. 159.
- Doß, B.**, Entstehung der ökonomisch wichtigsten Schwefelkieslagerstätten, p. 92.
- Dowson, W. J.**, Über das Mycel des *Aecidium leucospermum* und der *Puccinia fusca*, p. 150.
- Dümmer, R. A.**, A bisexual „gymnospermous“ *Begonia*, p. 157.
- Dwight, Pierce W., Cushman, R. A. and Hood, C. E.**, The Insect Enemies of the Cotton Boll Weevil, p. 125.
- Edgerton, C. W.**, The Melanconiales, p. 119.
- Eggers, H.**, Die Verbreitung von *Pityogenes austriacus* Wachtl und *elongatus* Löw, p. 142.
- Elofson, A.**, Bericht über die Tätigkeit der Ultuna-Filiale des schwedischen Saat-zuchtsvereins im Jahre 1910, p. 121. [Schwedisch.]
- Eriksson, Jacob**, Études sur la maladie produite par la *Rhizoctone violacée*, p. 154.
- Esig, E. O.**, Aphidae of Southern California, IX and X, p. 184.
- , Host Index to California Plant Lice. II. (Aphidae), p. 185.
- Euler**, Zur Kenntnis der Zellulose, p. 93.
- Ewert, R.**, Verschiedene Überwinterung der Monilien des Kern- und Steinobstes und ihre biologische Bedeutung, p. 126.
- Fahringer**, Zur Frage der Ernährungsweise von *Phosphuga atrata* L., p. 154.
- Fairman, C. E.**, Notes on new species of fungi from various localities, p. 96.
- Falck, R.**, Über die Erkennung und Unterscheidung des echten Hausschwammes, p. 94.
- Familler, Jg.**, Moosgallen aus Bayern, p. 168.
- Famincyn, A.**, Zur Erforschung der Wirkung von *Tilletia Tritici* und *Ustilago Maydis* auf den Menschen und die Haustiere, p. 123. [Russisch.]
- Felt, E. P.**, *Diarthronomyia Californica* n. sp. (Diptera, Itonidae), p. 166.

- Felt, E. P.**, The Gall Midge Fauna of Western North America, p. 166.
- Ferdinandson, C. und Winge, O.**, Studien über einen bis jetzt unbeachteten gemeinen dänischen Discomyceten, p. 120. [Dänisch.]
- , Über *Myrioconium Scirpi* Syd., p. 120.
- Feucht**, Nochmals die gefeldertrindige Buche, p. 160.
- Fischer, Ed.**, Eine neue Pilzeinschleppung in der Schweiz, p. 132.
- Forcart, M. K.**, Larosan als Ersatz für Eiweißmilch, p. 89.
- Formánek, R.**, Eine neue *Torneuma* aus Dalmatien, p. 132.
- Fraser, W. P.**, Further cultures of heteroeocious rusts, p. 117.
- Frémy, P.**, Sur une fascie de *Carlina vulgaris* L., p. 157.
- Friederichs**, Beobachtungen über *Phosphuga atrata* L., ihre Nahrung und die einiger anderer Silphini, p. 154.
- Fulmek, Leop.**, Über *Anisoplia austriaca*, F. p. 122.
- Göttinger**, Mitteilungen über Waldkulturen, über Insekten- und Elementarbeschädigungen der Wälder, p. 135.
- von der Goltz**, Über die Folgen der Dürreperiode, p. 177.
- Green, E. Ernest**, Remarks on Coccidae collected by Mr. Edward Jacobson of Samarang, Java, p. 185.
- Grohmann**, Die Rauchschäden und deren forstliche Bedeutung, p. 178.
- Großmann, H.**, The occurrence of *Zygorynchus Moelleri* in Michigan, p. 82.
- Grove, W. B.**, Four little known British Fungi, p. 104.
- , Mycological notes, p. 98.
- , New or noteworthy Fungi. Part. IV, p. 104.
- , *Sphaerella* v. *Mycosphaerella*, p. 118.
- Grüß und Sorauer**, Studien über den Gummifluß der Kirschen, p. 130.
- Guéguen**, Développement de l'appareil conidien et synonymie de l'*Hemispora stellata* Vuillemin, p. 82.
- Guéguen, F.**, Soudure et fasciation chez quelques Basidiomycètes selon leur mode de groupement, p. 158.
- Hammar, A. G.**, Life-history Studies on the Codling Moth in Michigan, p. 129.
- Hanzawa, J.**, Über das Welken der Gurkenpflanzen, p. 147.
- Hardenberg, C. B.**, The willow tree caterpillar (*Angelica tyrreha* Cr.). A destructive pest in forest plantations, p. 143.
- Harper, R. A.**, Nuclear Phenomena of sexual Reproduction in Fungi, p. 77.
- Hartwich, C.**, Schweizer Mutterkorn vom Jahre 1911, p. 122.
- Hausrath, H.**, Versuche zur Entstehung der Vertrocknungsschütte, p. 140.
- Heck**, Verhalten erwachsener Fichten gegen Dürre und Frost, p. 141.
- Hedicke, H.**, Beiträge zur Kenntnis der Cynipiden (Hym.). T. III, p. 167.
- Hedlund, T.**, Kleemüdigkeit des Bodens, p. 152. [Schwedisch.]
- Hegy, Dezsö**, *Marssonina Kirchneri* Hegyi n. sp., p. 147. [Magyar. u. deutsch.]
- Heikertinger, Franz**, *Psylliodes attenuata* Koch, der Hopfen- oder Hanf-Erdflö. II. T. Morphologie und Bionomie der Imago, p. 156.
- Heinricher, E.**, Ernährungsphysiologische Rassen auf Mistel, p. 176.
- Heinze, B.**, Über die durch Bakterien hervorgerufenen Krankheiten und Schädigungen unserer Kulturpflanzen, p. 97.
- Henriques, V. und Gialdback, J. K.**, Untersuchungen über die Plasteinbildung, p. 84.
- Hergt**, Abnorme Frucht von *Papaver Rhoeas*, p. 160.
- Hofer**, Blattkrankheiten an Birnbäumen und an Pfirsichen, p. 130.
- , Notizen zu einer Pilzflora des Kanton Aargau, p. 104.
- Hoffmann, Fritz**, Zur Biologie der *Cheimatobia brumata*, p. 128.
- Holloway, T. E.**, Insects liable to Dissemination in shipments of Sugar Cane, p. 124.
- Horváth, G.**, Die amerikanische Büffelzikade in Ungarn, p. 128. [Ungarisch.]
- Houard**, Les galles des Crucifères de la Tunisie, p. 170.
- Howard, L. O.**, Die Siebzehnjahr-Zikade, p. 188.
- Hunter, H. D., Pratt, F. C. and Mitchell, J. D.**, The principal Cactus Insects of the United States, p. 151.
- Hunter, W. D.**, Two destructive Texas Ants, p. 188.
- Jablonowski, J.**, Beiträge zur Kenntnis der Lebensgeschichte einer für Ungarn neuen Acaridenart, p. 154.
- Jaccard, P. et Burnat, J.**, Sur un cas de Court-noué observé aux environs de Montpellier, p. 133.
- Jacobson, Edw.**, Symbiose zwischen der Raupe von *Hypolycaena erylus* Godart und *Oecophylla smaragdina* Fab., p. 173.
- Illingworth, J. F.**, A Study of the Biology of the Apple Maggot (*Rhagoletis pomonella*) together with an Investigation of Methods of control, p. 130.
- , Cherry Fruit Flies and how to control them, p. 129.
- Johansson, K. L.**, Über *Merodon equestris*, p. 187.
- Johnston, T. H.**, American Maize Sumt, p. 124.
- , On some Fungi found on Fruit, p. 126.
- , On some Fungi found on Potatoes

- with special Reference to *Armillaria mellea*, p. 156.
- Ivanow, Sergius, L.** Die Eiweißreservestoffe als Ausgangsprodukt des Stoffwechsels in der Pflanze, p. 84.
- Karny, H.** Gallenbewohnende Thysanopteren aus Java, p. 162.
- , Revision der Gattung *Heliethrips* Haliday, p. 132.
- , Revision der von Serville aufgestellten Thysanopterengenera, p. 163.
- , Über einige afrikanische Thysanopteren, p. 163.
- , Zwei neue Physapoden-Genera, p. 163.
- Kasai, M.** Contributions to the mycological Flora of Japan. III. On the Japanese species of *Phragmidium*, p. 107.
- Kayser, E.** Influence des humates sur les microorganismes, p. 85.
- v. Keissler, K.** Über die Gattung *Symphyosira*, p. 110.
- , Über die weiße Heidelbeere, p. 135.
- Kieffer, J. J.** Les Cécidomyies du Tamarix, p. 166.
- , Neue Gallmücken-Gattungen, p. 162.
- , Nouveau démembrement du genre *Clinodiplosis*, p. 166.
- Klimesch**, Beiträge zur Kenntnis der Gattung *Trypophloeus* Fairm. (*Glyptoderes* Eichh.), p. 190.
- Knoll, F.** Über die Abscheidung von Flüssigkeit an und in den Fruchtkörpern verschiedener Hyphenomyceten, p. 118.
- Koenen, Otto**, Wirkungen des trockenen Sommers 1911 auf die Pflanzenwelt, p. 176.
- König**, Besonderheiten des ostpreußischen Waldes in bezug auf Standort, Bestockung und forstliches Verhalten einzelner Holzarten, p. 192.
- Kolkwitz, R.** Die Beziehungen des Kleinplanktons zum Chemismus der Gewässer, p. 90.
- , Zur Lebensgeschichte von *Sphaerotilus natans*, p. 91.
- Kooper, W. D.** Sind Alkalität und „Peroxidase“ der Milch identische Begriffe? p. 89.
- Kossowicz, Alexander und Gröller, Leopold von**, Rhodanverbindungen (Schwefelcyanverbindungen) als Kohlenstoff, Stickstoff und Schwefelquelle für Schimmelpilze, Sproßpilze (Hefen) und Bakterien: I. Mitteilung. Verhalten der Schimmelpilze zu Rhodanverbindungen, p. 77.
- Kraus, C.** Die gemeine Quecke *Agropyrum repens* P. B., p. 179.
- Kraus, X.** Ein unheimlicher Gartenfeind, p. 129.
- Krausse, A. H.** Beiträge zur Kenntnis der Insektenfauna Sardinien, p. 130.
- , Heuschrecken auf Sardinien, p. 188.
- Küster, Ern.** Über organoide Mißbildungen, an Pflanzen, p. 158.
- Kusano, L.** *Gastrodia elata* and its symbiotic association with *Armillaria mellea*, p. 173.
- Kusano, S.** On the Chloranth of *Prunus Mume*, caused by *Caeoma Makinoi*, p. 160.
- Kuwana, S. J.** The White-Flies of Japan, p. 128.
- Lafforgue, G.** Le *Botrytis cinerea*, p. 134.
- Lagerberg, T.** Über eine Bildungsabweichung interessanter Art der Fichte, p. 141. [Schwedisch.]
- Lång, Gösta**, *Polyporus annosus* Fr. i Finland, p. 142.
- Laubert, R.** *Tuberculina maxima* Rostr., p. 142.
- Lengerken, H. v.** Beitrag zur Lebensgewohnheit von *Otiorrhynchus rotundatus* Siebold, p. 149.
- Lettau, G.** Beiträge zur Lichenenflora von Ost- und Westpreußen, p. 110.
- , Beiträge zur Lichenographie von Thüringen, p. 110.
- Lindau, G.** Eine neue *Belonium*-art aus Neu-Guinea, p. 110.
- Lloyd, C. G.** Mycological notes, p. 98.
- Lombardi, D.** Alcune osservazioni morfologiche e biologiche intorno alla *Fordia formicaria* Heyden, p. 181.
- Lotrionte, G.** La semina profonda e l'Orobanche della fava, p. 175.
- Ludwig**, Bericht über *Bruchus scutellaris*, p. 124.
- Lüderwaldt, H.** Zur Biologie von *Stenomata dissimilis* Kearfott. Fam. Tineidae (Kearfott det 1911), p. 139.
- Lüstner, G.** Über von einem Käfer hervorgerufene Schälwunden an Obstbaumtrieben, p. 128.
- Magnus, P.** Die Verbreitung der *Puccinia Geranii* Lev. in geographisch-biologischen Rassen, p. 151.
- , Zur Kenntnis der parasitischen Pilze Siebenbürgens, p. 101.
- , Zur Pilzflora Syriens. J. Bornmüller, Iter Syriacum. II. 1910. Fungi, p. 107.
- Maire**, Quelques remarques sur divers Champignons parasites observés en Normandie, p. 103.
- de Man, J. G.** Helminthologische Beiträge. I. *Diplogasteroides spengelii* n. g. n. sp., eine in dem durch *Torula monilioides* Corda (usw.) verursachten braunen Fluß der gemeinen Roßkastanie lebende Anguillulide. II. Über *Mononchus muscorum* (Duj.) und dessen Vorkommen im schwarzen Pilz-Algenfluß der Buche, *Fagus silvatica* L. III. Zur Kenntnis der Gattung *Dorylaimus* Duj., p. 186.
- , *Odontopharynx longicauda* n. g. n. sp. Eine neue Form von Anguilluliden, p. 148.
- Martelli, G.** Le *Pieris brassicae* e *P. rapae* parassite del *Capparis rupestris*, p. 146.

- Martelli, G.**, *Myopites limbardae* Schin., p. 162.
 —, *Primo contributo alla biologia del Phytonomus variabilis*, p. 153.
- Martin, Ch. Ed.**, *Les quatre Cordyceps de la flore mycologique suisse*, p. 111.
- Martini, W.**, *Graptolitha* Hein. (*Laspeyresia* Meyr.) *oxytropidis*, eine neue Wicklerart aus Thüringen, p. 150.
 —, *Raupe und Mine der Elachista subcellae* Stph., p. 191.
- Masoni, G.**, *Saggio su l'azione del solfato di manganese in rapporto alla vegetazione* p. 161.
- Massee, G.**, *A new paint-destroying fungus (Phoma pigmentivora Mass.)*, p. 93.
 —, *Fungi exotici*. XII, p. 114.
- Meisenheimer, J.**, *Die Weinbergschnecke Helix pomatia L.*, p. 193.
- Mell, R.**, *Bausteine zur Kenntnis der Fauna Südchinas*, p. 180.
- Mercer, W. B.**, *On the Morphology and Development of Phoma Richardiae n. sp.*, p. 148.
- Merker**, *Untersuchungen über zwei neue Zellulose vergärende Bakterien*, p. 93.
- Michotte, F.**, *L'agave. Culture et exploitation*, p. 85.
- Miehe, Hugo**, *Javanische Studien II. Untersuchungen über die javanische Myrmecodia*, p. 172.
 —, *Javanische Studien V. Die Bakterienknoten an den Blatträndern der Ardisia crispa A.DC.*, p. 170.
- Mitterberger, K.**, *Die Arten der Gattung Argyreasthia Hb. (Mikrolepidoptere) um Steyr in O.-Österreich und im angrenzenden Teile von Steiermark*, p. 191.
- Miyake, J.**, *Studien über die Pilze der Reis-pflanze in Japan*, p. 124.
- Möbius, M.**, *Über Merulius sclerotiorum*, p. 94.
- Moesz, Gustav**, *Über den Mehltau*, p. 116. [Magyarisch.]
 —, *Über Marssonina Kirchneri Hegyi n. sp.* p. 117. [Magyarisch.]
- Montemartini, L.**, *Una nuova malattia della Sulla: Anthostomella Sullae n. sp.*, p. 150.
- Moore, W.**, *Green peach Aphis (Myzus persicae) and its Control*, p. 131.
- Moreau, F.**, *Sur la reproduction sexuée de Zygorhynchus Moelleri Vuill.* p. 82.
 —, *Sur l'existence d'une forme écidienne uninucléée*, p. 151.
 —, *Sur une nouvelle espèce d'Aedocephalum*, p. 80.
- Moreau, M. et Mme F.**, *Les corpuscules métachromatiques et la phagocytose*, p. 77.
- Morstatt, H.**, *Über das Vorkommen von Gespinnsten bei Psociden*, p. 144.
- Müntz, A. et Gaudechon, H.**, *Le reveil de terre*, p. 92.
- Murrill, W. A.**, *The Agaricaceae of the Pacific Coast. IV. New species of Clitocybe and Melanoleuca*, p. 114.
 —, *The Amanitas of Eastern North America*, p. 119.
- Nadson, G. A.**, *Mikrobiologische Studien*, p. 76. [Russisch.]
- Naegeli, O.**, *Über zürcherische Ophrysarten*, p. 157.
- Naoumoff, N.**, *Materiaux pour la Flore mycologique de la Russie*, p. 106.
- Naoumow, N.**, *Sur une nouvelle espèce de Pyrénomycète: Pleospora Catumensis nov. sp.*, p. 131.
- Némec, B.**, *Weitere Untersuchungen über die Regeneration*, p. 161.
 —, *Zur Kenntnis der niederen Pilze. IV. Olpidium Brassicae Wor. und zwei Entophlyctisarten*, p. 145.
- Nierenstein, M.**, *Contributions to the Chemistry of Cheddar Cheese*, p. 90.
- Nomura, X.**, *Interno alla ruggine del renegeso (Astragalus sinicus L.) e a due nuovi micromiceti patogeni del gelso*, p. 132.
- Ohl, J. A.**, *Verzeichnis der von N. P. Trussow im Gouvernement Tula gefundenen Gallen*, p. 168. [Russisch.]
- Osborn, H.**, *Economic Importance of Stictoccephala*, p. 153.
- Oshanin, B.**, *Katalog der palaearktischen Hemipteren (Heteroptera, Hemiptera-Auchenorrhyncha und Psylloideae)*, p. 182.
- Osterwalder, A.**, *Durch Bakterien verursachte Blüten- und Zweigdürre bei Obstbäumen*, p. 126.
- Paczoski, J.**, *Der wilde Wein aus Cherson (Vitis silvestris Gmel.)*, p. 133. [Russisch.]
- Palladin, W. und Kraule, G.**, *Zur Kenntnis der gegenseitigen Abhängigkeit zwischen Eiweißabbau und Atmung der Pflanzen. I. Über die Wirkung des Sauerstoffs der Luft und die Arbeit des proteolytischen Ferments in abgetöteten Pflanzen*, p. 85.
- Paque, E.**, *L'été de 1911 et le monde des Champignons*, p. 176.
- Parrott, P. J.**, *Oviposition among Tree Crickets*, p. 127.
- Patouillard, N.**, *Quelques Champignons du Costa-Rica*, p. 109.
 —, *Quelques Champignons du Tonkin*, p. 107.
- Peck, Ch. H.**, *Report of the State Botanist 1911*, p. 108.
- Peklo, Jaroslav**, *Über symbiotische Bakterien der Aphiden*, p. 174.
- Pergande, Theo.**, *The life history of the Alder blight Aphis*, p. 144.
- Petrak, Franz**, *Flora Bohemiae et Moraviae exsiccata*, p. 101.
- Petri, L.**, *Formazione e significato fisiologico*

- dei cordoni endocellulari nelle viti affette da arriccamento, p. 133.
- Petroff, J. P.**, Die Pilze des Moskauer Distriktes, p. 106. [Russisch.]
- Phillips, W. J. and Davis, J. J.**, Studies on a new Species of Toxoptera, p. 185.
- Pierantoni, U.**, Larven-Hermaphroditismus von *Icerya purchasi*, p. 127.
- Politis, J.**, Una nova malattia del mughetto (*Convallaria majalis*) dovuta alla *Botrytis vulgaris*, p. 148.
- Poppe, K.**, Über die Frage der Ubiquität der Paratyphusbazillen in Nahrungsmitteln, p. 88.
- Potebnia, A.**, Beiträge zur Mikromycetenflora der Gouv. Kursk und Charkow, p. 105. [Russisch.]
- Prunet, A.**, Le Black-Rot, p. 134.
- du Quinsou**, Les parasites des végétaux, p. 174.
- Ramme**, Über die japanische Locustide *Diastrammena marmorata* Br., p. 188.
- Reh**, Schaden durch den Gartenlaubkäfer, p. 191.
- Reiff, William**, Etwas über „Canker-worms“, p. 128.
- Reinberger**, Futterpflanzen der Zygaenenraupen, p. 152.
- Reitmair, O.**, Beiträge zur Biologie der Kartoffelpflanze mit besonderer Berücksichtigung der Blattrollkrankheit, p. 155.
- Reuter, E.**, Über das Auftreten von *Ophiobolus* in Finland, p. 122. [Schwedisch.]
- Richter, A.**, Ohrwurm, Huhn und Getreideungeziefer, p. 181.
- Rossi, R.**, Alcune notizie intorno a due *Cleonini* dannosi alle barbabietole da zucchero nella Campania, p. 155.
- Rostrup, Sofie**, Die Lebensweise der *Hylemyia coarctata* in Dänemark, p. 121.
- Rothke, Max**, *Euparthenos nubilis* Hb. und ihre Entwicklungsgeschichte, p. 145.
- Rudow**, Afterraupen der Blattwespen und ihre Entwicklung, p. 187.
- Sartory, A. et Bainier, G.**, Étude morphologique et biologique d'un champignon nouveau du genre *Gymnoascus*, *Gymnoascus confluens* n. sp., p. 111.
- Sawada, K.**, Hypochnus on cultivated Plants in Formosa, p. 119.
- Schander, R.**, Neue Studien über die Blattrollkrankheit der Kartoffel, p. 155.
- Scheidter, Franz**, Über Generation und Lebensweise des bunten Erlenrübbers, p. 143.
- Schiele, Frd.**, Material zu einer Thysanopteren (Blasenfuß-) und Collembolenfauna Galiziens, p. 166.
- Schirmer, C. und Schumacher, F.**, Beiträge zur Kenntnis der Rhynchotenfauna Deutschlands (Hemiptera), p. 189.
- Schmidt, Hugo**, Neue Gallenstandorte und Gallen aus der Gegend von Steinau a. O., p. 167.
- Schmidt, Hugo**, Weitere Nachrichten über die Verbreitung gallenbildender Hymenopteren in der niederschlesischen Ebene, p. 169.
- Schneider-Orelli, O.**, Über Schwammspinner und Goldafter mit besonderer Berücksichtigung nordamerikanischer Bekämpfungsversuche gegen diese Obstbaumschädlinge, p. 191.
- Schotte, Gunnar**, Der nutzholzreichste Waldbestand Schwedens, p. 142. [Schwedisch.]
- Schuster, Vaclav und Uehla, Vladimir**, Studien über Nektarorganismen, p. 96.
- Schwangart, F.**, Gallmilben an Reben, Obstbäumen und Beerensträuchern, p. 167.
- Schwartz, E. T.**, Observations on *Asarum europaeum* and its Mycorrhiza, p. 173.
- Shear, C. L. and Wood, A. K.**, Studies of fungous Parasites belonging to the Genus *Glomerella*, p. 112.
- Simroth, H.**, Bemerkungen über den Einfluß des letzten Sommers, p. 177.
- Smith, C. O.**, Some successful Inoculations with the Peach Crown Gall Organism and certain Observations upon retarded Gall Formation, p. 167.
- Smotlacha, Franz**, Monographische Bearbeitung der Boletineen Böhmens, p. 120. [Tschechisch.]
- Sommerstorff, Hermann**, Ein Tiere fangender Pilz (*Zoophagus insidians* n. gen. n. sp.), p. 81.
- Spaulding, Perley**, Fungi of Clay mines, p. 94.
- , Notes on *Cronartium comptoniae*, p. 112.
- Spegazzini, Carlos**, Contribución al estudio de las Laboulbeniomicetas Argentinas, p. 116.
- Spratt, E. R.**, Some Observations of Life History of *Anabaena Cycadeae*, p. 173.
- Spuler**, Zur Biologie der *Heterogynis pennella* Hb., p. 181.
- Stadel, O.**, Über einen neuen Pilz, *Cunninghamella Bertholletiae*, p. 79.
- Stäger**, Psychologische Beobachtungen an der Raupe des Pflaumenwicklers (*Carpocapsa funebrana* Fr.), p. 131.
- Standfuß, M.**, Einige Mitteilungen über paläarktische Noctuiden, p. 192.
- Stephens, Edith**, Note on the Anatomy of *Striga lutea* Lour., p. 175.
- , The Structure and Development of the Haustorium of *Striga lutea*, p. 175.
- Stift, A.**, Zur Geschichte des Wurzeltöters oder der Rotfäule (*Rhizoctonia violacea* Tul.), p. 153.
- Strohmeyer**, Dreizehn neue Arten der afrikanischen Platypodiden-Gattung *Periomnatus* Chap., p. 189.
- , Neue Platypodiden aus Deutsch-Ostafrika, Kamerun und Französisch-Kongo, p. 189.
- Strohmeyer, H.**, Neue Platypodiden aus

- Ost- und Westafrika, Madagaskar und Peru, p. 139.
- Sulc, Karl**, Monographia generis *Trioza* Foerster. Species regionis palaearticae. Pars I. No. 1—10. 10 Tafeln, p. 188.
- Sumstine, D. R.**, Studies in North American Hyphomycetes. II, p. 79.
- Sureya, M.**, Sur quelques Champignons inférieurs nouveaux ou peu connus, p. 98.
- Sydow, P.**, Uredineae exsiccatae, p. 118.
—, Ustilagineae exsiccatae, p. 118.
- Sydow, H. und P.**, Beschreibungen neuer südafrikanischer Pilze, p. 109.
—, Einige neue parasitische Pilze aus Rußland, p. 106.
—, Notes and Descriptions of Philippine Fungi. I., p. 107.
- Sylvén, N.**, Einige monströse Formen von *Anemone pratense* L., p. 159. [Schwedisch.]
- Teodoro, G.**, Ricerche sull' emolinfia dei Lecanini, p. 174.
- Thaxter, Roland**, New or critical Laboulbeniales from the Argentine, p. 115.
—, Preliminary Descriptions of new Species of *Rickia* and *Trenomycetes*, p. 114.
- Thomas, Fr.**, Über die mit Frostwirkung verwechselten Minen von *Orchestes* (*Rhynchaenus*) *fagi* an *Fagus silvatica*, p. 143.
- Tidswell, Fr.**, Memorandum on the Mode and Signs of Infection of Plants by Fungi, p. 96.
—, Notes on some Irish Blight Problems, p. 156.
- Tragårdh, J.**, Undersökungar öfver roun bärsmalen (*Argyresthia conjugella* Zett.) år 1910 och 1911, p. 129.
- Tranzschel et Serebrianikow**, Mycotheca Rossica, p. 105.
- Traverso, G. B.**, Intorno alla *Sphaerella macularis* degli autori, p. 144.
- Treboux, O.**, Beiträge zur Kenntnis der ostbaltischen Flora. VII. 1. Verzeichnis von parasitischen Pilzen aus dem Kreise Pernau, p. 106.
- Trinchieri, G.**, Nuovi micromiceti di piante ornamentali, p. 147.
- Turconi, Malusio**, Sopra una nuova specie di *Cylindrosporium* parassita dell' *Ilex furcata* Lindl., p. 145.
- Uvarov, B.**, Über die Orthopterenfauna Transkaspens, p. 180.
- Van der Goot, P.**, Zur Systematik der Aphiden, p. 185.
- Vatter, A.**, *Secale cornutum* 1911, p. 122.
- Vimmer, Anton**, Ergänzungen zu dem Aufsatz: „Zur Kenntnis von *Phytophthora xylostei* Kltb.“, p. 181.
- Vitzthum, Graf Herm.**, Die Tetranychiden Deutschlands, p. 183.
- Voges, E.**, Über *Monilia*-Sklerotien, p. 127.
- Volkart, A.**, Fungi, Pilze. In: Pflanzengeo-
pragische Monographie des Berninagebietes von **E. Rübel**, p. 105.
- Vuillemin, P.**, Répartition de *Gonatobotrytidae* entre les Conidiosporés et les Blastosporés, p. 80.
—, Revue annuelle de Mycologie, p. 110.
- Vuillet, A.**, Les maladies du Ginseng (*Panax quinquefolium* L.), p. 125.
- Wagner, Jul.**, Beiträge zur Kenntnis der Gattung *Amphipsylla* Wagn. (*Aphaniptera*), p. 170.
- Wanach**, Über einige Potsdamer Eichen gallen und Gallwespen, p. 164.
—, Über einige Schädlinge, p. 145.
- Webb, J. L.**, A preliminary synopsis of cerambycid larvae, p. 190.
- Webster, F. M.**, The Clower Mite, p. 152.
- Wehmer, C.**, Hausschwammstudien III. Ansteckungsversuche mit verschiedenen Holzarten durch *Merulium mycel*, p. 95.
- Wehsarg, O.**, Das Unkraut im Ackerboden, p. 178.
- Weigmann und Wolff**, Weitere bakteriologische Untersuchungen aus der milchwirtschaftlichen Praxis, p. 85.
- Weir, J. R.**, Some observations on *Polyporus berkeleyi*, p. 143.
- Whetzel, H. H.**, Baldwin spot or stippin, p. 126.
- Wichmann**, Beschreibung der Freßbilder von *Taphrorychus hirtellus* Eichh., p. 190.
- de Wildeman, E.**, Documents pour l'étude de la géo-botanique congolaise, p. 109.
- Wirtgen, F.**, Zur Flora des Vereinsgebietes, p. 157.
- Witte, H.**, Über die Formenmannigfaltigkeit der wichtigeren Futtergräser, p. 121. [Schwedisch.]
- Wolf, F. A.**, The perfect Stage of *Actionema Rosae*, p. 149.
- Wormsbacher, Henry**, Die Katokalen der Vereinigten Staaten von Nordamerika, p. 138.
- Wüst**, Die Gallen und ihre Erzeuger. Über Zuchtresultate, p. 164.
—, Studien an *Cecidomyia rosaria* Lw. und *albipennis* Wz., p. 164.
- Zametzger**, Über merkwürdige Verwachsungen an Waldbäumen, p. 158.
- Zederbauer, E.**, Versuche über individuelle Auslese bei Waldbäumen. I. *Pinus silvestris*, p. 136.
- Zellner, J.**, Die Symbiose der Pflanzen als chemisches Problem, p. 174.
—, Zur Chemie der höheren Pilze. V. Über den Maisbrand (*Ustilago Maydis* Tulasne). VI. Chemische Beziehungen zwischen höheren parasitischen Pilzen und ihrem Substrate, p. 123.
—, Zur Chemie der höheren Pilze. IX. Über die durch *Exobasidium Vaccinii* Woron auf *Rhododendron ferrugineum* L. erzeugten Gallen, p. 150.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Hager-Mez, Das Mikroskop und seine Anwendung. Handbuch der praktischen Mikroskopie und Anleitung zu mikroskopischen Untersuchungen, p. 193.

Klein, Richard, Über Nachweis und Vorkommen von Nitraten und Nitriten in Pflanzen, p. 195.

Pringsheim, Ernst G., Kulturversuche mit chorophyllführenden Mikroorganismen I, p. 193.

Schulow, Ew., Versuche mit sterilen Kulturen höherer Pflanzen, p. 194.

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Audebert, O., La défense contre l'Altise, la Cochylis et l'Eudémis. État actuel de la question, p. 209.

Baker, Sarah M., Note on a new treatment for silver-leaf disease in fruit trees, p. 206.

Berlese, A., Come progredisce la Prospaltella Berlese in Italia, p. 211.

Betten, R., Der Zweigabstecher, p. 205.

Binder, W., Wichtige Fragen des Obstbaues, p. 204.

Blanc, G. R., Revue générale de la famille des Tarsonémides, p. 214.

Bretschneider, A., Die falschen Meltauipilze (Peronosporaceae) und ihre Bekämpfung, p. 199.

Burill, A. C., Economic and biologic Notes on the giant Midge, Chironomus (Tendipes) plumosus Meigen, p. 212.

Catoni, Giulio, Parassiti dell' Anthonomus pomorum (L.) osservato in Valle di Non (Trentino), p. 215.

Chaine, J., Traitement des Buis contre le Monarthropalpus buxi Lab., p. 211.

Elofson, A., Redogörelse för verksamheten vid Sveriges Utsädesförenings Ultanafilial år 1911, p. 204.

Essig, E. O., The natural Enemies of the Citrus Mealy Bug. IV, p. 206.

Feytaud, J., La Punaise bleue, p. 211.

v. Freyhold, Zur gründlichen Vertilgung der Wollaus an Topfgewächsen, p. 214.

Fron, G., Note sur quelque Mucédinées observées sur Cochylis ambiguella, p. 209.

—, Sur une Mucédinée de la Cochylis (2e note), p. 210.

Fuschini, C., Dei mezzi piu idonei per combattere la carie ed il carbone, p. 203.

—, Il solfato ferroso contro la ruggine, p. 204.

Gayon, U. et Lafforgue, G., L'Altise. Rapport sur les travaux de la Commission de la Gironde pour l'année 1911, p. 210.

Geret, L., Heuschreckenplage in Uruguay und ihre Bekämpfung, p. 215.

Gossard, H. A., Entomological Review of the Year 1910, p. 198.

Grosser, Zur Verwendung der kalifornischen Brühe (Schwefelkalkbrühe), p. 198.

Hartley, C. P., Use of soil fungicides to prevent damping-off of coniferous seedlings, p. 200.

Heikertinger, Franz, Zur Praxis des Käferfanges mit dem Kätscher, p. 215.

d'Herelle, F., Sur une épizootie de nature bactérienne sévissant sur les sauterelles au Mexique, p. 214.

Herrmann, E., Der Hallimasch, p. 204.

Hewitt, G. C., Legislation in Canada to prevent the Introduction and Spread of Insects, Pests and Diseases destructive to Vegetation with Regulations of Vegetation into Canada, p. 198.

Hiltner und Korff, Neue Vorbeugungs- und Bekämpfungsmaßnahmen gegen den amerikanischen Stachelbeermehltau, p. 206.

Hultsch, Max, Wie überwintern unsere Obstbaumfeinde und was kann man im Winter zu ihrer Bekämpfung tun? p. 205.

Hyslop, J. A., The false Wireworms of the Pacific Northwest, p. 213.

—, The legume pod moth, p. 207.

Koczirz, Fritz, Die chemische Zusammensetzung des Pilzbekämpfungsmittels „Forhin“, p. 199.

Kroemer, K., Wege und Ziele des neuen Weinbaues, p. 207.

Kryž, Ferdinand, Über die Aufnahme von Vaselineöl durch Balsaminen, p. 196.

—, Über die Wirkung eines graphithaltigen Bodens auf darin keimende und wachsende Pflanzen, p. 196.

Krzemecki, A., Über Jod- und Bromwirkung auf Proteinkörper, p. 195.

Kuppke, Vertilgung der Maulwurfsgrille oder Werre in den Saatkämpen, p. 215.

Kurdjumov, N. V., Hyménoptères parasites nouveaux ou peu connus, p. 213.

Lehmann, K. B., Die neuesten Arbeiten über Bestimmung, Konservierungskraft und Zulässigkeit der Benzoësäure, p. 197.

Lemcke, Alfred, Unsere Pflanzenschädlinge im Monat Mai. Zur Beachtung für die Sammler der Pflanzenschutzorganisation in Ostpreußen, p. 200.

MacDougall Stewart, R., Mustart Beetles, p. 215.

Marsh, H. O., The imported cabbage webworm, p. 207.

Martin, Fr., Contre le court-noué, p. 209.

Moore, W., Notes on the Life History of several Species of Aphides, p. 214.

Morill, W. and Back, E. A., Natural control of white flies in Florida, p. 206.

Naumann, Gibt es ein Mittel zur Bekämpfung der Kropfkrankheit? p. 207.

Norton, J. B. S., Jonathan fruit spot, p. 206.

Pantanelli, E., Esperienze sul ripianto di vigne americane e sue conseguenze, p. 208.

Paoli, Guido, Nuovi Laboulbeniomiceti parassiti di Acari, p. 213.

- Petritsch, E. F.**, Neuere Bestrebungen auf dem Gebiete der Holzkonservierung, p. 197.
- Pfeiffer, F.**, Ergänzungsbericht zu „Versuche zur Bekämpfung der Rebschädlinge in Hessen im Jahre 1912“, p. 209.
- Pointu, E.**, Les traitements contre le Milidiou (de la Vigne), p. 211.
- Quaintance, A. L.**, The leaf blister mite, p. 205.
- , The mediterranean Fruit-fly, p. 205.
- , **Jenne, E. L., Scott, E. W. and Braucher, R. W.**, The one-spray method in the control of the Codling moth and the plum curculio, p. 205.
- Russel, H. and Fet, Johnston**, The Life History of Tetrastichus asparagi Crawf., p. 215.
- Russel, H. M.**, An internal Parasite of Thysanoptera, p. 212.
- , The greenhouse Thrips, p. 212.
- Russell, E. J. and Petherbridge, F. R.**, Partial Sterilisation of Soil for Glasshouse Work, p. 196.
- Schaffnit, E.**, Die Herstellung und Vorbereitung des Saatgutes, p. 202.
- Schellenberg, H.**, Zur Bekämpfung der Milbenkräuselkrankheit, p. 209.
- Smith, H. S.**, The Chalcidoid genus Perilampus and its relations to the problems of parasite introduction, p. 212.
- Snyder, T. E.**, Insect damage to mine props and methods of preventing the injury, p. 201.
- Sopp, Olav (Johann Olsen)**, Untersuchungen über Insekten vertilgende Pilze bei den letzten Kiefernspinner-Epidemien in Norwegen, p. 201.
- Störmer, K., u. Kleine, R.**, Die Drahtwürmer, p. 212.
- Webster, R. L.**, Spraying with Linseed Oil Wash for the Oyster Shellscale, p. 214.
- Wichgraf, F.**, Der Kampf gegen Kulturschädlinge in Amerika, p. 211.
- Wiebecke**, Moderne Anlage von Kiefern und Kiefern Buchenbeständen, p. 200.

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagsbuchhandlung **Gustav Fischer** in Jena einzusenden.

Abgeschlossen am 10. August 1914.

Hofbuchdruckerei Rudolstadt.

Centralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 42. No. 10/14.

Ausgegeben am 12. Oktober 1914.

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Affinität eines neuen weißen Fadenpilzes (*Aspergillus Okazakii*).

Von Keiichiro Okazaki.

Unter den Fermenten, welche von den niederen Pflanzen ausgeschieden werden, sind besonders diejenigen, welche von den Schimmelpilzen sezerniert werden, erst später klargestellt worden. Das Ferment, welches von dem japanischen Kojipilze *Aspergillus oryzae* abgesondert wird, hat seiner kräftigen diastatischen Wirkung wegen ebenso in der Medizin wie in der Technologie Anwendung gefunden. Dagegen wurden die proteolytischen Fermente von den Schimmelpilzen bisher niemals technisch dargestellt. Ich glaubte daher, daß es einen großen Fortschritt bedeuten würde, wenn man unter Anwendung von Schimmeln, aus welchen man auf passendem Wege überall eine große Menge von Enzymen erhalten kann, ein Hilfsmittel für die Verdauung von Eiweiß und Stärke schaffen könnte. Ich habe mich daher seit vielen Jahren mit der Züchtung von verschiedenen Schimmelpilzen beschäftigt, in der Hoffnung, eine passende Art zu finden. Im April 1904 habe ich zufällig einen neuen, weißen Schimmelpilz auf alter Nuka-koji (d. h. eine aus Reiskleie bereitete Koji) gefunden, welcher beim Versuche die Nährgelatine längs der Strichlinie gelöst hat. Ferner fand ich, daß das aus diesem Pilze in gewöhnlicher Weise dargestellte Ferment manche Eiweißkörper und Stärke kräftig auflöste. Meine Kollegen, die Herren Dr. Yagi und Yamagata, betrachteten den Pilz als eine neue, noch nicht beschriebene Art, und gaben ihm den Namen *Aspergillus Okazakii*. Im Jahre 1907 habe ich in dem Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 19, über seine Morphologie, Physiologie, Verwandtschaft und Diagnose eine Mitteilung veröffentlicht. Nachher hat auch Prof. Lindner im Jahre 1909 diesen Pilz in seinem Handbuche „Mikroskopischer Betrieb und Kontrolle in den Gärungsgewerben“ beschrieben und dabei besonders sein energisches eiweißspaltendes Vermögen in Betracht gezogen. Die Methode der Darstellung von „Digestin“ aus diesem Pilze wurde in 13 Staaten, wie Japan, Großbritannien, Vereinigte Staaten, Frankreich, Rußland usw. patentiert.

Ogleich dieser Okazaki-Kojipilz unzweifelhaft eine neue Art weißer Fadenpilze darstellt, ähnelt er doch in manchen Punkten dem *Aspergillus albus* u. *A. candidus*. Ich habe seit der Veröffentlichung meines ersten Berichtes die Untersuchung fortgesetzt, und zwar habe ich bezüglich der Morphologie, des Wachstums und der Wuchsform, Wachstumsgeschwindigkeit und der Fermente dieser 3 *Aspergillen* vergleichende Untersuchungen angestellt, deren Resultate ich hier mitteilen will:

Zweite Abt. Bd. 42.

15

Morphologisches.

Zusammenstellung der äußeren Gestalt dieser 3 Aspergillen:

Tabelle I.

	<i>Aspergillus</i> <i>Okazakii</i> μ	<i>Aspergillus</i> <i>albus</i> μ	<i>Aspergillus</i> <i>candidus</i> μ
Durchmesser des Mycelfadens .	2,0—4,0	gegen 3,7	2,5—5,0
Länge der Konidienträger . . .	150,0—550,0	120,0—450,0	700,0—2000,0
Breite der Konidienträger . . .	5,0—12,5	3,5—7,0	5,5—11,0
Durchmesser des Köpfchens . . .	12,0—40,0	10,0—30,0	10,0—40,0
Länge der primären Sterigmen .	12,5—20,0	8,5—117,5	17,5—40,0
Breite der primären Sterigmen .	5,0—8,5	4,0—7,0	2,5—5,0
Länge der sekundären Sterigmen	6,0—14,0	5,0—12,0	gegen 5,0
Breite der sekundären Sterigmen	2,5—4,0	2,5—3,0	gegen 2,5
Durchmesser der Konidien . . .	2,5—5,0	2,5—3,5	2,0—3,5
Farbe der Konidienrasen	weiß-gelblich- braun	grauweiß- leicht gelb	weiß-braun

Die benutzten Nährböden waren weißer Reis, Reiskleie und ein fester Nährboden, welcher aus Reiskojiextrakt (dessen Zuckergehalt am Bolling-schen Saccharometer 11 Grad gezeigt hat) und 1,5 Proz. Agar-Agar zusammengesetzt war. Die Pilze wurden bei ihrer betreffenden optimalen Temperatur gezüchtet.

Wachstum und Wuchsform.

Die Versuche, welche sich auf die entsprechenden Eigenschaften dieser 3 Aspergillen bezogen, wurden sämtlich unter möglichst gleichen Bedingungen gleichzeitig und parallel ausgeführt, um dadurch die Fehler auszuschalten, welche sonst beim Vergleiche der Resultate leicht entstehen könnten.

1. Optimale Temperatur für das Wachstum:

Tabelle II.

<i>Aspergillus Okazakii</i> . .	23°—28° C
<i>Aspergillus albus</i>	17°—24° C
<i>Aspergillus candidus</i> . .	20°—24° C

2. Kulturversuche.

Die Zahl der verschiedenen Nährböden, welche zum Vergleichen von Wachstumsgeschwindigkeit und Wuchsform benutzt wurden, betrug mehr als 10; sie werden unten einzeln aufgezählt. Von jedem dieser flüssigen, bzw. festen Nährböden wurden je etwa 6 ccm in Reagensgläser verteilt, mit Watte verstopft und regelmäßig im Kochschen Dampftopf dreimal fraktionell sterilisiert. Danach wurde je eine Platinöse von jedem dieser Pilze auf diese Nährböden übergeimpft und im Thermostaten bei 22—25° C aufbewahrt. Die festen Nährböden enthielten je 1,5 Proz. Agar-Agar, bzw. 10 Proz. weißer Gelatine.

A. Züchtung in der flüssigen Nährlösung.**1. Kojiextrakt.**

Diese Nährflüssigkeit wurde durch Abkochen von weißer Reiskoji zubereitet; ihre Konzentration ergab am Bolling-schen Saccharometer 11°.

Tabelle III.

Tag	<i>Aspergillus Okazakii</i>	<i>Aspergillus albus</i>	<i>Aspergillus candidus</i>
1. 2.	Etwaige Mycelinsel		Kräftige Entwicklung. Die Mycelfäden verbreiteten sich auf der Oberfläche
3.			
4. 5.	Die Mycelinsel überzog die ganze Oberfläche. Weiße Konidienrasen auch bemerkbar	Entwicklung langsam. Etwaige Mycelmasse am Boden und in der Nährflüssigkeit	
Resumé			
	Oberflächliche Myceldecke mehr und mehr verdickt und in der Mitte konkav ausgehöhlt. Die Nährflüssigkeit immer klar	Vereinzelte Mycelinsel an der Glaswand erst am Flüssigkeitsniveau beobachtet Danach Mycelinsel an der Glaswand entwickelt und schließlich wird eine ringförmige, steigende Mycelmasse gebildet. An der Oberfläche und in der Flüssigkeit äußerst langsame Entwicklung	Myceldecke mehr und mehr verdickt, aber nie in der Mitte ausgehöhlt

2. Kojiextrakt mit Ajinomoto (glutaminsaurem Natrium).

Das Resultat war gleich dem oben angeführten.

3. Malzextrakt.

Dieses wurde durch ein Dekokt von Malz aus einer Bierbrauerei mit Brunnenwasser bei 55° C dargestellt; seine Konzentration betrug nach dem Bolling'schen Saccharometer 11°.

Tabelle IV.

Tag	<i>Aspergillus Okazakii</i>	<i>Aspergillus albus</i>	<i>Aspergillus candidus</i>
1. 2.			Oberflächliche Mycelinsel erschien; sie bedeckte die ganze Oberfläche
3.			
4.	Submerse Mycelien in der Mittelschicht der Lösung und an der Glaswand Mycelring an der Glaswand und auch Konidien gebildet	Mycelien nur an einem Teile der Glaswand am Flüssigkeitsniveau entwickelt; auch kleine Mycelmasse am Boden. Die Mittelschicht der Nährlösung ist klar geblieben	Vollkommene Myceldecke gebildet. Konidienrasen auch üppig entwickelt
5. 6.	Mycelinsel überzog die ganze Oberfläche; die Konidienrasen nahmen einen gelblichen Ton an	An der Glaswand ein Mycelring gebildet	
7.			
			Konidienrasen von leicht brauner Farbe

15*

Aspergillus Okazakii und *A. albus* zeigten in dieser Nährflüssigkeit keine Besonderheiten; sie gediehen ganz so wie in dem Kojiextrakt. Nur war die Entwicklung um etwa $\frac{1}{2}$ Tag früher als in dem letzten Nährmedium. Dagegen zeigte sich bei *A. candidus* die Entwicklung um mehr als 1 Tag verspätet, wenn er in Kojiextrakt gezüchtet worden war.

4. Sojabohnenextrakt.

5. Sojabohnenextrakt mit Traubenzucker.

Diese Nährflüssigkeit wurde so bereitet, daß dem oben genannten Sojabohnenextrakt Traubenzucker zugesetzt wurde, bis er 2 Proz. des gesamten Nährstoffes ausmachte. Die 3 Arten gediehen in dieser Nährflüssigkeit besser als im obigen Sojabohnenextrakt.

6. Künstliche Nährlösung.

Diese Nährlösung hatte folgende Zusammensetzung:

Rohrzucker (käuflich)	5,00 %
K ₂ HPO ₄	0,50 %
MgSO ₄	0,25 %
CaCl ₂	0,50 %
Ajinomoto (glutaminsaures Na) . .	2,00 %
Brunnenwasser.	

Tabelle V.

Tag	<i>Aspergillus Okazakii</i>	<i>Aspergillus albus</i>	<i>Aspergillus candidus</i>
1.			
2.			
3.	Myceldecke auf der Oberfläche gebildet		Mycelien schwammen auf der Oberfläche
4.	Myceldecke überzog die ganze Oberfläche, auch Konidien waren gebildet. Die obere Schicht der Flüssigkeit etwas gelblich	Mycelinsel bedeckte etwa $\frac{8}{10}$ der ganzen Oberfläche	Myceldecke überzog die ganze Oberfläche
5.			
6.		Myceldecke überzog die ganze Oberfläche	
Resumé	Myceldecke erstreckte sich allmählich nach der unteren Schicht und machte schließlich die ganze Flüssigkeit durchsichtig und gelb	Die Nährflüssigkeit durchsichtig und selbst nach 3 Monaten nicht gefärbt	Nach etwa 1 Monate begann die Flüssigkeit, von der oberen Schicht aus allmählich einen gelblichen Ton anzunehmen

7. Hefewasser.

Etwa 80 g Preßhefe wurden mit 1000 ccm Brunnenwasser aufgeschwemmt und durch Kochen extrahiert. Der Macerationssaft wurde nach Filtrierung sofort als Nährflüssigkeit benutzt. Das spezifische Gewicht derselben betrug 1,0035.

Das Resultat stimmte mit dem folgenden überein, welches mit Hefenwasser mit Traubenzucker gewonnen wurde.

8. Hefenwasser mit Traubenzucker.

Dem obengenannten Hefenwasser wurde Traubenzucker bis auf 2 Proz. zugesetzt.

9. Peptonhefenwasser.

Hefenwasser wurde mit 2 Proz. Pepton versetzt. Das Resultat war fast gleich demjenigen mit dem Hefenwasser mit Traubenzucker.

Tabelle VI.

Tag	<i>Aspergillus Okazakii</i>	<i>Aspergillus albus</i>	<i>Aspergillus candidus</i>
1. 2. 3.	Etwa $\frac{6}{10}$ der Nährflüssigkeit wurden von Mycelinseln bedeckt und auch in der mittleren Schicht wurden submerse Mycelmassen beobachtet		Myceldecke überzog die ganze Oberfläche
4.			Konidien gebildet; in der Nährlösung etwas submerse Mycelmasse beobachtet
5.	Mycelinseln überzogen die ganze Oberfläche. Konidien auch gebildet	Ein kleiner Teil der Glaswand wurde im Flüssigkeitsniveau mit Mycelmasse bedeckt; auch am Boden kleine Mycelmasse	

10. Fleischwasser.

Diese Nährflüssigkeit wurde dadurch gewonnen, daß 500 g zerkhacktes Pferdefleisch mit 1000 ccm Brunnenwasser aufgekocht, filtriert, mit Pep-ton (1 Proz.) und Kochsalz (0,5 Proz.) versetzt und mit Natriumkarbonat neutralisiert wurden.

Tabelle VII.

Tag	<i>Aspergillus Okazakii</i>	<i>Aspergillus albus</i>	<i>Aspergillus candidus</i>
1. 2.	Spärliche Mycelmasse an der Oberfläche und in der Flüssigkeit		Oberflächliche Myceldecke gebildet
3.			Mycelinseln bedeckten die ganze Oberfläche
4.	Mycelinseln bedeckten $\frac{6}{10}$ der Oberfläche und schwammen auch in der oberen wie unteren Schicht der Nährlösung. Auch Konidien gebildet	Am Boden etwas submerse Mycelmasse beobachtet. Die oberflächliche Myceldecke nicht entwickelt	Konidien gebildet
5.	Dünne Myceldecke überzog endlich die ganze Oberfläche. Entwicklung der Konidien kümmerlich		

11. Fleischwasser mit Traubenzucker.

Das obengenannte Fleischwasser wurde mit 2 Proz. Traubenzucker versetzt und als Nährlösung benutzt. Die 3 Arten verhielten sich ganz wie im Fleischwasser, nur war ihre Entwicklung etwas besser.

B. Feste Nährböden.

Feste Nährböden wurden dadurch bereitet, daß man den oben genannten flüssigen Nährböden Agar-Agar oder 1,5 Proz. bzw. 10 Proz. Gelatine, je nach ihren Zwecken, zusetzte.

Tabelle VIII.

Tag	<i>Aspergillus Okazakii</i>	<i>Aspergillus albus</i>	<i>Aspergillus candidus</i>
1. 2.	Kolonien an der Strichlinie hier und da beobachtet		Grobe Kolonien erschienen hier und da
3.	Die Auflagerung schon 5 mm breit; Konidien gebildet. Ein Teil der Auflagerung bereits braun gefärbt	Kleine, feuchte Auflagerungen entlang der Strichlinie	Kolonien erstreckten sich über die ganze Fläche des Nährbodens; Konidien auch gebildet
4.	Die Mycelfäden, welche sich nahe an der Strichlinie entwickelten, waren ziemlich lang und von grobkörnigem Aussehen	Die Auflagerung entwickelte Konidien von oben nach unten hin, je nach der allmählichen Trocknung. Auflagerung überhaupt eben, nur etwas hoch an der Strichlinie und niedriger nach beiden Rändern hin	
Resumé	Auflagerung zeigt nach außen eine wellenförmige Erhebung, an ihren Rändern gebuchtet. Die ganze Auflagerung mit transversalen Furchen versehen. Die Farbe nahm allmählich einen gelblichbraunen Ton an. Der obere Teil der Auflagerung wurde nach einigen Tagen mit Luftthyphen bedeckt	Selbst nach einigen Tagen noch feuchte Auflagerung am Fuße des Nährbodens. Nach etwa 10 Tagen Konidien an der ganzen Auflagerung; etwas graulich gefärbt, später allmählich leicht gelblich	Emporwachsende Mycelfäden sehr lang; ihre Wuchsform ähnelte etwas der des <i>Aspergillus oryzae</i> . Die Farbe der Myceldecke nahm allmählich einen braunen Ton an

Tabelle IX.

Tag	<i>Aspergillus Okazakii</i>	<i>Aspergillus albus</i>	<i>Aspergillus candidus</i>
1. 2.	Schwache Entwicklung der Mycelien		Spärliche Mycelmasse
3.		Entlang der Strichlinie etwas feuchte Auflagerung	
4.	Auflagerung bedeckt $\frac{8}{10}$ der Bodenfläche. Emporwachsende Mycelfäden verhältnismäßig lang. Konidienbildung kümmerlich. Die Auflagerung schon gelblichbraun	Der obere Teil der Auflagerung etwas getrocknet und mit spärlichen Konidien	Auflagerung bedeckte die ganze Oberfläche. Ihr unteres $\frac{1}{5}$ eine feuchte Decke. Konidien nur an der oberen Hälfte
Resumé	Gegen den 10. Tag am oberen Ende des Nährbodens Luftthyphen	Gegen den 10. Tag veränderte sich ein großer Teil der Auflagerung in eine trockene Decke. Konidienrasen anfänglich grauweiß, dann allmählich leicht gelb. Konidienbildung kümmerlich	Am 6. Tage Konidien auf der ganzen Decke, anfänglich weiß, dann allmählich braun

a) Agarstrichkultur.

1. Kojiagar.

2. Malzagar.

Das Resultat war kaum von demjenigen zu unterscheiden, welches mit Kojiagar gewonnen worden war.

Tabelle X.

Tag	<i>Aspergillus Okazakii</i>	<i>Aspergillus albus</i>	<i>Aspergillus candidus</i>
1. 2. 3. 4.	Spärliche Mycelmasse	Etwas Mycelmasse Entlang der Strichlinie bedeckte die feuchte Auflagerung etwa $\frac{1}{5}$ des Nährbodens. Trockene Mycelmasse nur am oberen Ende des Nährbodens. Konidienbildung mit bloßem Auge nicht wahrzunehmen	Mycelien entwickelt Lange, grobe, weiße Mycelien über der ganzen Fläche des Nährbodens
Resumé	Am 10. Tage hatten die kurzen Mycelien etwa $\frac{2}{3}$ der ganzen Fläche entlang der Strichlinie bedeckt und hatten Konidien. Die Farbe etwas bräunlich. In der Mitte der Auflagerung ein langes Tal, dessen beide Ränder ein grobes Aussehen hatten. Dieses Tal zeigte einige Querfurchen. Die Ränder der Kolonien reichlich gebuchtet. Nach einigen Tagen wuchs ein Bündel von Lufthyphen am oberen Teil empor. Die Mycelmasse färbte sich allmählich gelblich-braun	Erst am 8. Tage wurden weiße Sporangien über $\frac{2}{3}$ des oberen Teils des Nährbodens gebildet. Auflagerung später bräunlich-gelb	Auflagerung wird allmählich braun

Tabelle XI.

Tag	<i>Aspergillus Okazakii</i>	<i>Aspergillus albus</i>	<i>Aspergillus candidus</i>
1. 2. 3. 4.	Über die ganze Oberfläche eine sehr kurze, dichte Mycelauflagerung mit Konidienrasen; leicht gelblich-brauner Ton	Auflagerung sehr kümmerlich, etwa 3 mm breit, entlang der Strichlinie	Myceldecke über der ganzen Oberfläche, aber Wachstum etwas gröber und kümmerlich. Sporangien nur am oberen $\frac{1}{3}$ des Nährbodens
Resumé	Auflagerung leicht gelblich-braun	Erst am 8. Tage die Auflagerung getrocknet und auf ihr weiße Konidien, welche später gelb werden	Die Auflagerung blieb weiß, selbst nach 2 Monaten

3. Kojiagar mit Ajinomoto (glutaminsaurem Natrium).
4. Sojabohnenextrakt-Agar.
5. Sojabohnenextrakt-Agar mit Traubenzucker.

Das Resultat stimmte im großen und ganzen mit dem obengenannten überein.

6. Agar mit künstlicher Nährlösung.
7. Fleischwasseragar.

Tabelle XII.

Tag	<i>Aspergillus Okazakii</i>	<i>Aspergillus albus</i>	<i>Aspergillus candidus</i>
1. 2.			Mycelfäden etwas entwickelt
3.	Entlang der Strichlinie spärliche, weiße Myceldecke		
4.	Spärliche Konidien am oberen Teile der Auflagerung	Etwas Mycelmasse an der Strichlinie; Konidien hier und da	Mycelien über der ganzen Fläche
5.			Konidien spärlich
6.	Auflagerung 2 mm breit; Mycelfäden sehr kurz; Konidienrasen an der ganzen Oberfläche gelblich-braun und kümmerlich		
7.		Breite der dicken Auflagerung mehr als 4 mm; grauweiß	Konidienrasen rau und kümmerlich

8. Fleisschwasseragar mit Ajinomoto (glutaminsaurem Natrium).

Das Resultat war dem mit Fleischwasseragar fast gleich.

9. Gelatinestrichkultur.

Dem 1-gradigen Kojidekokt wurde weiße 10-proz. Gelatine zugesetzt und in Reagensgläsern von gleichem Durchmesser verteilt und wie gewöhnlich je 30 Minuten an 3 aufeinanderfolgenden Tagen sterilisiert und in schiefer Stellung erstarren gelassen. Dann wurde jeder dieser 3 *Aspergillen* mit einer möglichst gleichen Platinöse auf diesem Nährmedium geimpft und im Arbeitszimmer stehen gelassen, dessen Temperatur zwischen 16—21° C schwankte. Dabei wurde bei *Aspergillus albus* und *A. candidus* beobachtet, daß sie schon am 3. Tage entlang der Strichlinie zu wachsen begannen, während *A. Okazakii* erst am 4. Tage zur Entwicklung gekommen ist. Seitdem war die Entwicklung von *A. Okazakii* immer um 1 Tag verspätet gegenüber der der beiden anderen. Am 9. Tage hat *A. candidus* schon die ganze Fläche bedeckt und die Konidien waren auf der ganzen Vegetation zu beobachten. Bei *A. albus* haben die Mycelien dagegen nur über $\frac{1}{3}$ der Fläche sich verbreitet, und es wurden auch Konidien gebildet, während *A. Okazakii* zu dieser Zeit noch keine Konidienrasen gebildet hat, wenn auch seine Vegetation sich über etwa $\frac{1}{3}$ der Oberfläche verbreitet hat.

Am Boden der Reagensgläser, in welchen *A. Okazakii* gezüchtet wurde, zeigte sich schon am 9. Tage verflüssigte Gelatine in einer Tiefe von etwa 6 mm, während bei den anderen beiden Arten die Verflüssigung noch

Tabelle XIII.

Tag	Zimmer-temperatur	Wachstum und Sporangien			Verflüssigung		
		<i>Aspergillus Okazakii</i>	<i>Aspergillus albus</i>	<i>Aspergillus candidus</i>	<i>Aspergillus Okazakii</i>	<i>Aspergillus albus</i>	<i>Aspergillus candidus</i>
1.	16,5	Wachstum begonnen	Wachstum begonnen	Wachstum begonnen			
2.	17,5						
3.	17,0						
4.	16,0						
5.	15,5						
6.	18,5	Konidien gebildet	Konidien gebildet	Konidien gebildet	Verflüssig. begonnen	Verflüssig. begonnen	
7.	19,0						
8.	21,5						
9.	18,5						
10.	19,0						
11.	15,0				Verflüssig. beendet	Verflüssig. beendet	Verflüssig. begonnen
12.	14,5						
13.	20,5						
14.	12,5						

Tabelle XIV.

Tag	<i>Aspergillus Okazakii</i>	<i>Aspergillus albus</i>	<i>Aspergillus candidus</i>
3.	Spärliche Mycelauflage- rung am Stichkanal	Spärliche feuchte Mycel- decke an der Oberfläche	Myceldecke an der Ober- fläche
4.			
7.			
8.			
10.			
1 Monat	Mycelien bedeckten die ganze Oberfläche; Koni- dien schon gebildet. Spär- liche Entwicklung am Stichkanal und gleich- zeitig Verflüssigung Das obere $\frac{2}{3}$ des Nähr- bodens gelöst; Mycelien zylindrisch entwickelt	Feuchte Myceldecke überzog die ganze Ober- fläche und kroch an der Glaswand empor, wäh- rend sie im Stichkanal fast nicht entwickelt war	Selbst eine Spur von Ver- flüssigung war schwer zu entdecken

nicht eingetreten war. Am 10. Tage hat die Tiefe der Verflüssigung bei *A. Okazakii* 17 mm erreicht, bei *A. albus* aber nur 9,5 mm. Die Verflüssigung der ganzen Nährgelatine trat bei *A. Okazakii* schon um 9 Uhr morgens des 12. Tages, bei *A. albus* aber erst am Mittag des 13. Tages ein. Dagegen hat *A. candidus* erst am 14. Tage die Nährgelatine langsam zu verflüssigen begonnen.

c) Gelatinestichkultur.

Die Nährböden wurden in der oben angegebenen Weise bereitet, nur wurden die Reagensgläser bei der Koagulation der Gelatine senkrecht gehalten. Die betreffenden Arten wurden in der Mitte dieser Nährböden möglichst gleichmäßig senkrecht mit Platindraht geimpft und in dem Zimmer stehen gelassen, dessen Temperatur zwischen 15—21° C schwankte.

III. Reaktion gegen Ferrichlorid.

Die 3 *Aspergillus* arten, welche auf den folgenden Nährsubstraten gezüchtet wurden, verhielten sich gegen Eisenchlorid wie unten angegeben. Die Züchtung dauerte zwischen 22—25° C 7 bzw. 15 Tage.

Tabelle XV.

Nährböden	<i>Aspergillus Okazakii</i>	<i>Aspergillus albus</i>	<i>Aspergillus candidus</i>
Polierter Reis	Schwach rötlich-braun	—	Blutrot
Kojiextrakt	—	—	—
Malzextrakt	Etwas rötlich	—	Schwach rot
Sojabohnenextrakt	—	—	Etwas rot
Sojabohnenextrakt mit Traubenzucker in künstlicher Nährlösung	—	—	—
mit Hefenwasser	—	—	Etwas gerötet
Peptonhefenwasser	—	—	Etwas gerötet?
Hefenwasser mit Traubenzucker	—	—	Etwas gerötet
Fleischwasser	—	—	Etwas gerötet
Fleischwasser mit Traubenzucker	—	—	—

Die Ferrichloridreaktion war bei *A. candidus* als eine auffallende zu bezeichnen, wogegen *A. Okazakii* nur etwas rötlich gefärbt wurde, während bei *A. albus* diese Reaktion gar nicht zu beobachten war.

Physiologisches.

1. Untersuchung auf dem Extrakt der betreffenden Koji mit 70-proz. Alkohol.

Der Zweck dieses Versuches war, die Menge der hier auftretenden Säure, Aminosäure und des Zuckers miteinander zu vergleichen, wenn man diese 3 *Aspergillus* arten auf dem polierten Reis züchtete. Das Nährsubstrat wurde folgendermaßen hergestellt: Der polierte Reis wurde vorher 24 Stunden in Wasser getaucht und dann 2 Stunden in dem Kochschen Dampftopf mit strömendem Dampf erhitzt. Nach Erkalten dieses gedämpften Reises wurden nach 10 Minuten je 50 g desselben genau gewogen und in Erlenneyersche Kölbchen gebracht, welche je auf 1 Stunde an 3 aufeinander folgenden Tagen sterilisiert wurden. Die betreffenden 3 *Aspergillen* wurden dann auf diese Nährböden geimpft und im Brutofen bei 22—25° C

4 bzw. 7 Tage aufbewahrt. Die auf diese Weise zubereitete Koji wurde anfangs durch je 150 ccm von 70-proz. Alkohol im Zimmer (Temperatur 17° C) 3 Stunden mazeriert. Anfangs und am Ende jeder Stunde wurden diese Mazerationen viermal gleichmäßig geschüttelt. Nach der letzten Schüttelung wurde sofort filtriert und mit diesen Filtraten wurden die folgenden Versuche angestellt:

Die betreffenden 3 Arten haben, wie schon erwähnt, verschiedene optimale Wachstumstemperatur. Deshalb würden sie sich nicht gleichmäßig entwickeln, sondern das Wachstum eines oder 2 derselben würde das der anderen überholen und so das Resultat fehlerhaft machen, wenn man nicht die Temperatur der Kultur sorgfältig regelte. Bei den unten beschriebenen Versuchen wurde deshalb die Temperatur streng innerhalb der gemeinschaftlichen optimalen Temperatur und auch die Dauer der Kultur auf zweierlei Weise gehalten. Das Resultat ist aus folgender Tabelle zu ersehen:

Tabelle XVI.
4-tägige Kultur (Mittelwert von 3-maligen Versuchen):

	<i>Aspergillus</i> <i>Okazakii</i>	<i>Aspergillus</i> <i>albus</i>	<i>Aspergillus</i> <i>candidus</i>
	%	%	%
Gesamtsäure (als SO_4H_2) . . .	0,0403	0,0330	0,0769
Aminosäure (Glykokoll) . . .	0,0205	0,0182	0,0296
Zucker (Traubenzucker) . . .	0,664	Spur	0,7728

Dabei wurde die Aminosäure nach S ö r e n s e n s Formelmethode und der Zucker nach der verbesserten P a r y s c h e n Methode bestimmt.

Tabelle XVII.
7-tägige Kultur (Mittelwert von 3-maligen Versuchen):

	<i>Aspergillus</i> <i>Okazakii</i>	<i>Aspergillus</i> <i>albus</i>	<i>Aspergillus</i> <i>candidus</i>
	%	%	%
Gesamtsäure (als SO_4H_2) . . .	0,0478	0,0519	0,0798
Aminosäure (Glykokoll) . . .	0,034	0,0324	0,0465
Zucker (Traubenzucker) . . .	0,740	Spur	0,984

In den oben angeführten Versuchen wurde jede Kultur, welche anfänglich dasselbe Gewicht gehabt hatte, auch bei der Analyse als von gleichem Gewichte angenommen. Aber dies war tatsächlich nicht der Fall, weil jede Art nicht in derselben Geschwindigkeit gewachsen war. Deshalb wurden in den folgenden Versuchen je 50 g von jeder Kultur abgewogen und analysiert. Das Resultat ist folgendes (s. Tabelle XVIII und XIX).

2. Untersuchung auf Extrakt mit kochendem Alkohol.

Von jeder dieser Koji, welche mit den betreffenden *Aspergillus*-arten in der oben angegebenen Weise zubereitet waren, wurden je 25 g abgewogen, in Kolben mit Rückflußkühler anfangs mit 150 ccm, von 80-proz. Alkohol, danach mit 150 ccm von 50-proz. Alkohol, jedesmal durch 20 Mi-

Tabelle XVIII.
4-tägige Kultur (Mittelwert von 2-maligen Versuchen):

	<i>Aspergillus</i> <i>Okazakii</i>	<i>Aspergillus</i> <i>albus</i>	<i>Aspergillus</i> <i>candidus</i>
	%	%	%
Gesamtsäure (als SO_4H_2) . . .	0,0352	0,0343	0,0758
Aminosäure (Glykokoll) . . .	0,0180	0,0179	0,0196
Zucker (Traubenzucker) . . .	0,659	Spur	0,874

Tabelle XIX.
7-tägige Kultur (Mittelwert von 2-maligen Versuchen):

	<i>Aspergillus</i> <i>Okazakii</i>	<i>Aspergillus</i> <i>albus</i>	<i>Aspergillus</i> <i>candidus</i>
	%	%	%
Gesamtsäure (als SO_4H_2) . . .	0,0475	0,0499	0,0759
Aminosäure (Glykokoll) . . .	0,0299	0,0304	0,0467
Zucker (Traubenzucker) . . .	0,698	Spur	0,8015

nuten langes Kochen extrahiert und sofort filtriert. Danach wurde der Rückstand mit 100 ccm 50-proz. Alkohol gewaschen und die gesamte Flüssigkeit auf 500 ccm aufgefüllt. Das unten stehende Resultat stellt den Mittelwert von 3-maligen Versuchen dar:

Tabelle XX.

	<i>Aspergillus</i> <i>Okazakii</i>	<i>Aspergillus</i> <i>albus</i>	<i>Aspergillus</i> <i>candidus</i>
	%	%	%
Gesamtsäure (als SO_4H_2) . . .	0,0144	0,0048	0,0182
Aminosäure (Glykokoll) . . .	0,0132	0,0061	0,0155
Zucker (Traubenzucker) . . .	1,156	Spur	1,625
TotalNitrog	0,1964	0,1852	0,1954

Fermente.

a) Proteolytische Fermente.

1. Aus den oben beschriebenen Versuchen über die Verflüssigung von Kojigelatine ist zu ersehen, daß alle diese Arten proteolytische Fermente in geringer oder größerer Menge enthalten.

2. 25 ccm roher Milch wurden mit 5 ccm sterilisierten, destillierten Wassers und 2 Tröpfchen Salzsäure versetzt nach Zusatz von 2 ccm Kojimazerationssaft. Diese Mazerationssäfte wurden folgendermaßen hergestellt: Je 50 g der betreffenden polierten Reiskoji, welche bei 22—25° C erst nach 10 Tagen reif geworden waren, wurden mit 100 ccm 80-proz. Alkohols 24 Stunden mazeriert und bei 38° C 2 Stunden lang stehen gelassen. Die Reaktionen waren folgende:

Die Biuret-Reaktion war bei *A. Okazakii* und *A. candidus* auffallend und bei *A. albus* gering, die Millonsche Reaktion war bei allen mäßig stark.

3. Je 30 ccm der obenerwähnten Kojimazerationssäfte wurden 2 Tropfen Salzsäure und 2 g Fibrin zugesetzt; sie wurden bei etwa 38° C aufbewahrt.

A. O k a z a k i i hat das Substrat in 40 Minuten aufgelöst, während die beiden anderen mehr als 1 Stunde dazu brauchten.

4. 50 ccm einer 3-proz. Peptonlösung wurden je 5 ccm der obenerwähnten Mazerationssäfte zugesetzt; sie wurden im Brutofen (36—38° C) 24 Stunden aufbewahrt. Die digerierten Flüssigkeiten färbten sich bei Zusatz von Brominen etwas rötlich, was auf die Entstehung von Tryptophan hinweist.

Dieselben Flüssigkeiten gaben auch auffallende Millonsche Reaktion. Diese beiden Tatsachen bewiesen, daß auch niedrige Zersetzungsprodukte von Eiweiß gebildet waren.

5. Je 6 ccm von 10-proz. weißer Gelatine wurden in Reagensgläser von demselben Durchmesser verteilt und in senkrechter Stellung erstarren gelassen. Diesen Reagensgläsern wurden je 5 ccm der obengenannten Kojimazerationssäfte und 3 Tröpfchen Toluol zugesetzt; sie wurden im Zimmer (15—21° C) stehen gelassen. Das Resultat war folgendes:

Tabelle XXI.

		<i>Aspergillus Okazakii</i>	<i>Aspergillus albus</i>	<i>Aspergillus candidus</i>
Tiefe der verflüssigten Gelatine	2 Wochen	3,0 mm	2,8 mm	2,6 mm
	3 Wochen	3,5 mm	3,2 mm	3,0 mm

b) Diastatische Fermente.

1-proz. Agar-Agar, welcher 2 Proz. Stärke und 0.5 Proz. Toluol enthielt, wurde in Petrischalen gegossen. In die Mitte dieser Agarschicht wurde je eine Platinöse der betreffenden, auf Kojigelatine gezüchteten Mycelmassen eingegraben, auch wurde in den gleichen Agarplatten je ein Korn der betreffenden Reiskoji, welche unter denselben Bedingungen bereitet worden war, eingegraben. Die zwei Reihen von Petrischalen wurden im Brutofen (etwa 30° C) auf 24 Stunden stehen gelassen. Nach Ablauf dieser Zeit wurde gefunden, daß bei A. O k a z a k i i und A. c a n d i d u s die Umgebungen der Mycelmassen beträchtlich durchsichtig geworden waren, während bei A. a l b u s diese Erscheinung noch nicht aufgetreten war. Nach den nächsten 24 Stunden erstreckte sich der weiße Ring von A. O k a z a k i i und c a n d i d u s mehr und mehr nach außen hin. Dagegen trat ein etwas durchsichtiger Ring bei A. a l b u s erst in dieser Zeit auf.

Beim Zugießen von Jodlösung auf die 24 Stunden lang digerierten Agarplatten färbten sich die klaren Umgebungen von A. O k a z a k i i und A. c a n d i d u s rötlich bis violett, während die Umgebung von A. a l b u s gleichmäßig violett gefärbt wurde. Nach 2 Tagen waren die rötlich-violetten Umgebungen von A. O k a z a k i i und A. c a n d i d u s tiefer gefärbt und größer geworden; gleichzeitig war auch die Umgebung von A. a l b u s etwas rötlich-violett geworden.

2. Je 20 ccm 2-proz. Stärke wurden 5 ccm der obengenannten Mazerationssäfte der betreffenden Pilzarten zugesetzt und auf 50—58° C erwärmt. Nach etwa 40 Minuten war bei A. c a n d i d u s die Verzuckerung schon beendet, bei A. O k a z a k i i nach etwa 50 Minuten, wogegen bei A. a l b u s die Verzuckerung nach 1 Stunde noch nicht vollzogen war.

3. Je 4 Proben wurden von der betreffenden weißen Koji, welche bei 22—25° C 1 Woche kultiviert worden war, genommen. Das Gewicht jeder dieser Proben betrug genau 5 g. Davon wurden je 2 Proben nach Zusatz von

50 ccm destillierten Wassers sofort im Kochschen Dampftopf $1\frac{1}{2}$ Stunden sterilisiert und filtriert. Die anderen 2 Proben wurden zum Zwecke der Verzuckerung $1\frac{1}{2}$ Stunden bei 55° C aufbewahrt und nach Ablauf dieses Zeitraums, wie die ersteren Proben, $1\frac{1}{2}$ Stunden gekocht und filtriert. Von jedem Filtrate wurden nach etwa 4-facher Verdünnung mit Wasser der Zuckergehalt nach der Paryschen Methode bestimmt. Das Resultat war folgendes:

Tabelle XXII.

	Aspergillus Okazakii	Aspergillus albus	Aspergillus candidus
Sofort gekocht	1,08—1,05%	Ohne Reduktion	1,06—1,13%
Gekocht nach $1\frac{1}{2}$ Stunden	1,408—1,571%	Spur	1,513—1,799%

Aus diesen Versuchen wurde es klar, daß alle 3 Arten in mehr oder minder großer Menge Diastase enthalten. Während aber *A. Okazakii* in seinem diastatischen Vermögen sich kaum von *A. candidus* unterscheidet, steht in dieser Beziehung *A. albus* den beiden anderen Arten beträchtlich nach, da sein diastatisches Vermögen sehr gering ist und öfters verborgen bleibt.

c) Labferment.

Je 10 ccm roher Milch wurden in Reagensgläser verteilt und mit 2 ccm der oben genannten Mazerationssäfte der weißen Koji versetzt und in ein Wasserbad von 45 — 53° C getaucht. *A. Okazakii* koagulierte die Milch in 35 Minuten, *A. candidus* in etwa 2 Stunden, während *A. albus* dazu mehr als $3\frac{1}{2}$ Stunden brauchte.

d) Oxydative Fermente.

Die weiße Reiskoji, welche mit *A. Okazakii* zubereitet wurde, veränderte von dem 7. oder 8. Tage der Kultur an allmählich die Farbe ihrer Oberfläche in die schwarzbraune. Bei der Züchtung derselben im Kojidekokt oder in Würze nahmen auch die Nährflüssigkeiten allmählich einen bräunlichen Ton an. Diese Erscheinungen sind vielleicht auf das Vorhandensein von stärkeren Oxydasen zurückzuführen.

Beim Zusatz von Hydrogenperoxyd zu den flüssigen Kulturen dieser 3 Aspergillen wurde die Entwicklung von Blasen in mehr oder minder großer Heftigkeit beobachtet, und zwar bei *A. Okazakii* am stärksten, vielleicht infolge der Zersetzung von Hydrogenperoxyd im Wasser und Sauerstoff hervorgerufen.

Die Nährflüssigkeit von *A. Okazakii* wurde bei Zusatz von Hydrogenperoxyd und Guajak tinktur verbraucht, was auf das Vorhandensein von Peroxydase hinweist. Die beiden anderen Arten gaben keine deutliche Reaktion gegen dieses Reagens.

e) Cytase.

Je 2 g „Konnyaku“-Pulver wurden in 10 ccm Wasser gelöst, mit je 2 ccm der obengenannten Mazerationssäfte versetzt und im Zimmer bei 25 — 28° C stehen gelassen. Die „Konnyaku“-Schicht wurde allmählich von oben aus gelöst, und zwar bei *A. Okazakii* und *A. albus* gleich stark, bei *A. candidus* aber ein wenig schwächer.

f) Invertase.

Je 20 ccm einer 3-proz. reinen Rohrzuckerlösung wurden unter Verwendung kleiner Mengen von Toluol 5 ccm der obengenannten Mazera-

säfte zugesetzt und 1 Tag bei 38° C stehen gelassen. Die Digestionsflüssigkeiten von *A. Okazakii* und *A. candidus* haben die Fehling'sche Lösung etwas reduziert, wogegen bei *A. albus* diese Wirkung nicht klar hervortrat.

g) Maltase.

Je 100 ccm 2-proz. Malzzuckerlösung wurden 10 ccm der Mazerations-säfte zugesetzt; sie wurden 5 Stunden bei etwa 38° C aufbewahrt, danach mit Essigsäure angesäuert und ihnen Phenylhydrazin zugesetzt. Nach stundenlanger Erwärmung auf 100° C wurde abgekühlt. Bei *A. Okazakii* und *A. candidus* traten gelbe Kristalle von Glykosazon auf, aber bei *A. albus* nur spurenweise; sie entzogen sich der genaueren Bestimmung.

Zusammenfassung.

1. *A. Okazakii* sieht dem *A. albus* sehr ähnlich, dessen Identifizierung einige Schwierigkeiten machen kann, während bei *A. candidus* einige charakteristische Merkmale vorhanden sind, wodurch er sich von den ersteren 2 Arten unterscheidet, so daß eine Gefahr, ihn zu verwechseln, hier nicht vorliegt. In morphologischer Beziehung ist zu bemerken, daß *A. Okazakii* etwas größer als *A. albus* ist.

2. *A. albus* scheut Feuchtigkeit sehr; er bildet daher selbst auf festen Nährböden eine feuchte Decke.

3. Die Myceldecke von *A. Okazakii* ist anfänglich weiß und wird dann gelblich-braun gefärbt; *A. albus* verändert seine grauweiße Farbe allmählich in die leichtgelbe und der weiße *A. candidus* wird langsam braun.

4. *A. Okazakii* bildet stets nach einigen Tagen, wenn auf einem passenden, schrägen Nährboden gezüchtet, ein Bündel von Lufthyphen am oberen Ende des Nährbodens.

5. Die Optimaltemperatur für das Wachstum ist bei *A. Okazakii* die höchste, bei *A. albus* die niedrigste, dazwischen kommt die des *A. candidus*.

6. Die Entwicklung auf den verschiedenen Nährsubstraten ist bei *A. candidus* stets üppig und bei *A. Okazakii* in manchen Fällen ziemlich gut, während sie bei *A. albus* meist kümmerlich ist.

6. In künstlichen Nährlösungen macht *A. Okazakii* schon einige Tage nach der Impfung die Nährlösung gelblich, *A. candidus* aber färbt erst nach 1 Monate dieselbe etwas gelblich. Dagegen bleibt die Nährlösung bei *A. albus* selbst nach 3 Monaten ganz farblos.

7. Ferrichlorid ruft bei *A. candidus* auf fast allen Nährsubstraten blutrote Färbung hervor, während *A. Okazakii* eine ungewisse Reaktion gibt. *A. albus* reagiert in keinem Falle gegen dieses Reagens.

8. Das Gelatine verflüssigende bzw. Eiweiß spaltende Vermögen ist am stärksten bei *A. Okazakii*, weniger bei *A. albus* und am schwächsten bei *A. candidus*.

9. Während in bezug auf die diastatische Wirkung *A. Okazakii* und *A. candidus* keinen großen Unterschied

zeigen, ist sie bei *A. albus* so schwach, daß sie manchmal verborgen bleibt.

10. Das Labferment wirkt bei *A. Okazakii* verhältnismäßig stark, bei *A. candidus* mäßig und bei *A. albus* am schwächsten.

11. Was oxydative Fermente anbetrifft, so entfaltet *A. Okazakii* eine kräftige oxydative Wirkung und auch in einem geringeren Maße die beiden anderen.

12. Die Wirkung von Cytase ist bei *A. Okazakii* und *A. candidus* eine geringe, bei *A. albus* aber ist ihr Vorhandensein zweifelhaft.

13. *A. Okazakii* und *A. candidus* haben eine fast gleiche Maltose spaltende Wirksamkeit, in *A. albus* aber kommt das Ferment in sehr geringem Maße vor.

Nachdruck verboten.

On a certain Coccus.

By Harold Schroeder.

As the result of the examination of coal sampled at a depth of 2,700 metres below ground level (1) an organism was isolated possessing the appearance of a coccus, but which fermented glucose and lactose in the presence of the full McConkey concentration of sodium taurocholate.

Insomuch as the fermentation of glucose and lactose in the presence of sodium taurocholate is regarded as presumptive evidence of the presence of a coliform organism, the further study of this organism was deemed of interest.

The organism was, for laboratory purposes, named *S*₂, and is so referred to below.

Its cultural and morphological characteristics are given below.

*S*₂ is a Gram-, non-sporing, non-liquifying, slightly motile coccus which sometimes occurs in pairs but never in chains.

It stains well with the usual stains employed, but Gentian Violet was found to be the best.

Its dimensions are remarkably constant, the diameter of *S*₂ being from 0.6 to 0.7 μ .

G. P. B. colonies are circular greyish translucent, zoned, convex, and appear in twenty four hours.

A. P. B. colonies are very similar to the above, but are less transparent.

G. P. B. Streak greyish white, granular, flakey growth, which may sometimes assume a faint yellow colour. It does not spread very rapidly and exhibits a greenish blue fluorescence at the edge.

A. P. B. Streak spreads very well, and is moister and more creamy than on gelatine.

Peptone Broth growth appears in twenty four hours and is fine and silky. Although it settles well the supernatant broth is always turbid.

Potato yellow-moist spreading growth.

The more important bio-chemical reactions are:

Glucose	}	Acid and gas — in presence of Sodium Taurocholate.
Lactose		
Saccharose		
Raffinose		
Mannit		

Nitrates are reduced to nitrites.

Milk is fermented with production of acid and clot.

Of the purity of the culture there could be no reasonable doubt. The initial colony was picked from a plate containing not more than one hundred colonies, which is well inside the limit adopted by Houston and by Prescott and Winslow. The plates, on which the organisms derived from the initial colony were allowed to develop, appeared perfectly homogeneous when examined under the microscope, and it was not until after two more sub-cultures that the actual examination of the organism was begun.

Special attention was paid to the microscopical appearance of the organism. Owing to its small dimensions special care had to be paid to the adjustment of the microscope, and for much assistance on this point the author is indebted to Mr. E. Moore Mumford, F. R. M. S., a microscopist of repute.

Although many slides were examined under magnifications of 1000—1500 no doubt could be thrown on the coccoidal appearance of the organism. At times and especially when staining with carbol-Fuchsin a bacillus-shaped appearance was obtained but this could invariably be resolved into two adjacent cocci and moreover careful measurements with a Leitz screw micrometer showed that the length of this 'bacillus' lay very close to twice the mean diameter of S_2 .

When examined alive by means of the dark ground condenser the circular shape of the organism was consistently apparent. The author did not find it possible to demonstrate the presence of flagellae but the occurrence of a haze around the image (which haze persisted through all variations in lighting such as did not destroy the image) suggested the possibility of their existence.

In view of the striking similarity to the Colon group which S_2 exhibits the action of this organism on glucose and mannitol was enquired into further.

Apparatus and solutions similar to those used by Harden (2) were employed and the methods used in examining the products were also based on those in the above paper.

Both with glucose and with mannitol the products of fermentation were qualitatively identical with those found by Harden (2) to result as the action of *B. coli communis* on the two substances named.

Quantitatively the similarities were also striking

	S_2		B. Coli	
	Glucose	Mannitol	Glucose	Mannitol
CO_2 + Formic Acid.	0.54	0.94	0.5	1.38
Ethyl Alcohol.	0.3	2.7	0.8	2.22
Acetic, Lactic and Succinic Acids.	4.95	3.67	4.04	3.26

Zweite Abt. Bd. 42.

16

Four hypotheses to explain these consistent similarities may be brought forward.

1. That the culture is impure.
2. That the coccus is really a bacillus.
3. That *B. Coli* has lost its rod-shape and becomes a coccus.
4. That the Colon group is not confined to bacilli.

Evidence, adequate in the author's opinion, has already been brought forward to dispose of the first two hypotheses.

In regard to the third hypothesis that *B. coli* has lost its bacterial shape and become a coccus, it is not logical to argue back from evidence solely concerned with one product of the alleged change. Whilst under examination, a period of some six months, the organism did not at any time vary in the coccoidal shape, and as the author did not perform any experiments with the attempted mutation of *B. coli* as their end, a discussion of the pros and cons of this hypothesis would be devoid of scientific value.

In this connection may be mentioned a paper by Revis (3) wherein may be found an account of a coccoidal form of *B. coli*. A culture of S_2 was sent to Revis for comparison with his organism but no similarities beyond those of microscopical appearance were to be observed.

The Colon group has been defined in many ways and a precise understanding has not even yet been arrived at.

From the single *B. coli communis* Escherich with its cast iron morphological and cultural definitions the Colon group has sprung and been extended till, in a comparatively short space of time, it now includes many hundreds of organisms, but these, apart from their many inter bio-chemical variations, possess one common relationship in properties — their bacillial shape, the requirement for which is the sole constant factor in the many definitions of this group.

The properties of S_2 and the Colon group may now for convenience be tabulated.

	Colon Group	S_2
Glucose	Acid and gas	Acid and gas
Lactose	Acid and gas	Acid and gas
Saccharose	[Acid and gas]	Acid and gas
Raffinose	[Acid and gas]	Acid and gas
Mannitol	Acid and gas	Acid and gas
Nitrates	+	+
Milk	Acid and clot	Acid and clot
Spores	—	—
Gram	—	—
Motility	Feeble or none	Slight

Members of the Colon group do not as a rule ferment Saccharose but Smith (4) as long ago as 1893 showed that the Colon group could be divided into two divisions according to whether Saccharose was or was not attacked and this was substantiated and extended by Winslow and Walker (5) who showed that any organism of the Colon group fermenting Saccharose, ipse facto, attacked Raffinose. It will be noticed that S_2 is possessed of a similar property.

It has frequently been noted that members of the Colon group are able to reduce the Litmus used as indicator in the culture tubes and this by certain American investigators has even been put forward as an essential criterion of the colon group. This phenomenon takes place from time to time in the case of S_2 , and finally the colonies developing on a Lactose Hill McConey

agar plate, closely resemble those produced by a normal colon bacillus and cannot in any way be held to be similar to the delicate *Streptococcus* colonies.

In the author's opinion a striking similarity between S_2 and the colon group has been shown, a similarity so striking and complete that it would be impossible, from biochemical results alone to successfully distinguish between a Colon bacillus and S_2 , and as the occurrence of *B. coli* in pairs of rods so short as to suggest diplococci is well known it might easily be that a cursory microscopic examination would also lead to a decision in favour of the colon bacillus.

If S_2 did not occur in sewage then the whole foundations of the present methods of bacteriological water analysis would have to be rebuilt, but water bacteria have been so long and so carefully studied that the possibility of such an organism as S_2 being a normal constituent of any water is not great, and may be held to be negligible and if it be not a normal constituent than the water under examination is obviously polluted, though whether by sewage is an open question.

Quite apart from the analogies which S_2 presents to the colon group it is possible from its other properties to offer presumptive evidence of its intestinal character.

It is well known that intestinal organism usually develops better at 37° than at 20° and moreover the colonies of such organisms usually are visible in 24—36 hours, whereas on the same media and on the same plate normal water bacteria require at least three days for growth.

S_2 develops better at 37° than at 20° and on gelatine the colonies are fully visible in 24 hours.

It was also shown by the author that the mine from which this organism was isolated was undergoing pollution from sewage. (The water collected at the 2700 metre level was a fair sample of a diluted sewage.)

In the face of this evidence it seems likely that S_2 may occur in sewage though not necessarily in fresh faeces.

Admitting then that by definition, a member of the Colon group must be a bacillus it is obviously not permissible to include S_2 in that group, although its strikingly similar biochemical properties might easily cause it to be mistaken for a member.

There seems to be no valid cause or reason why, because an organism carries its cell contents in a tube, it should be any more valuable an indicator of pollution than an organism, possessed of identical biochemical properties, but which happens to reproduce itself in a spherical shape.

Although the precise nature of the work performed by *B. coli* in the intestines has not been determined yet it appears that the occurrence of an organism in the intestines is concomitant with the possession of certain definite and long recognised biochemical properties which are daily made use of in water analysis.

There would seem to be no reason why, to argue back, i. e. given an organism possessed of these biochemical properties its intestinal origin should follow, would lead into error and indeed to omit any resort to microscopical examination and to rely on the dictates of biochemistry would set the art of bacteriological water analysis on a firmer and more scientific basis.

Up till now it has been assumed that the Colon group held a patent, so to speak, as an indicator of pollution. It has been shown in this paper

how a coccus possessed of very similar biochemical properties to the colon group is yet debarred from serving as an indicator of sewage pollution simply because it is not a bacillus.

Here may be quoted Prescott and Winslow (6) who maintain that all lactose fermenters are indicative of pollution. The author wishes to go further and to discontinue any grouping of organisms based on a distinction of microscopical appearance but to classify all those organisms possessed of biochemical properties which the experience of years of practise has shown to be concomitant with an intestinal origin and to employ these organisms as indicators of sewage pollution.

Frankland Laboratory, University of Manchester.

References.

1. Schroeder, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 41. 1914.
2. Harden, Journ. Chem. Soc. 1901.
3. Revis, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 33. 1912.
4. Smith, 13th Ann. Rep. of the State Board of Health of New York. 1893.
—, Wilder Quarter Century Book. 187.
—, Centralbl. f. Bakt. Bd. 18.
5. Winslow and Walker, Science. N. Ser. 26.
6. Prescott and Winslow, Elements of Water Bacteriology. p. 103.

Nachdruck verboten.

The Influence of Arsenic upon the Nitrogen Fixing Powers of the Soil.

[Utah Experiment Station, Logan, U. S. A.]

By J. E. Greaves and H. P. Anderson.

With 1 Textcurve.

In a previous article¹⁾ it was shown that arsenic applied to a soil stimulated the ammonifying and especially the nitrifying powers of that soil and that the stimulation varied with the form in which the arsenic was applied and, further-more, the quantity of arsenic present had to be very large before the toxic influence became marked. For these reasons it was desirable to determine the influence of arsenic upon the nitrogen fixing powers of the soil. For even though arsenic does not inhibit the action of the ammonifiers or nitrifiers, if it stops or materially retards the nitrogen fixing organism, one can not say that arsenic is not injurious to the soil flora. For these reasons this study has been carried out.

The soil used was the same as that used in the previous series. It is a typical bench soil, a sandy loam, fairly high in calcium and iron content, and supplied with an abundance of all the essential elements of plant food, with the exception of nitrogen which was low, a characteristic of arid soils. The soil was air dried, sieved, and stored in a large box, so that all determinations could be made on the same soil.

The determination of the nitrogen fixing powers of the soil was made as follows: Beakers covered with Petri dishes were sterilized and into these were weighed 100 gram portions of the air dried soil with two grams

¹⁾ Greaves, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 39. 1913. p. 542.

of mannite and then carefully mixed. Sodium arsenate was added from a standard solution with the proper proportion of sterile water, and the mixture thoroughly stirred with a sterile spatula. The other arsenical compounds were added in the dry state and then carefully mixed. Sufficient sterile distilled water was added to make the moisture content of the soil 18 per cent. The beakers and contents were weighed and the moisture content made up weekly to 18 per cent.

The samples were incubated at 28° C. to 30° C. for eighteen days and then the nitrogen determined. The tumblers and contents at the end of this time were placed in an electric incubator and kept at 95° C. until dry. They were then carefully transferred to a mortar, ground, and then 20 grams weighed into Kjeldahl flasks and the nitrogen determined according to the Lipman and Sharp's Method¹). The determinations were all made in duplicate and compared with sterile blanks, so that each result reported is the average of two or more closely agreeing determinations. The compounds used were sodium arsenate, lead arsenate, Paris green, zinc arsenite and arsenic trisulfide. In each case the quantity of the compound added was such as to give equivalent amounts of arsenic. The results reported as milligrams of nitrogen per 100 grams of soil are given in Table 1.

Table 1 giving Milligrams of Nitrogen fixed in 100 grams of soil during 18 days with varying amounts and different forms of arsenic.

Arsenic parts per Million	Sodium Arsenate	Lead Arsenate	Paris green	Arsenic trisulfide	Zinc Arsenite
0	18.2	16.10	15.22	9.8	9.1
20	22.4	16.00	13.72	11.2	11.9
40	14.0	16.4	13.02	14.0	9.7
80	14.0	18.90	14.00	15.4	9.6
120	15.0	21.0	8.82	16.2	10.5
160	15.4	21.0	8.32	16.4	9.7
200	14.0	21.7	7.42	14.0	8.4
240	12.6	16.8	6.72	12.8	8.4
280	0	16.1	6.02	11.2	8.4
320	0	16.0	6.00	11.2	9.0
360	0	15.8	6.02	9.8	9.1
400	0	15.80	5.22	9.8	9.1
0	18.2	16.10	15.22	9.8	9.1

In this series the concentration of the arsenic was not carried above 400 parts per million, for the previous work had shown that the main stimulation occurs before this concentration is reached. Furthermore the arsenic occurring in agricultural soils²), seldom exceeds 150 parts per million so it is certain that under agricultural practice it will never exceed the quantity used in this work.

The results reported in the above table bring out some very interesting facts and show that the nitrogen-fixing organisms are very similar to the nitrifying organisms in so far as their relation to arsenic is concerned. We find that the addition of 20 parts per million of sodium arsenate stimulates the action of the organisms and that 40 parts per million and above has a toxic influence and when the concentration reaches 280 parts per million

¹) Lipman and Sharp, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 35. 1912. p. 647.

²) Greaves, Biochem. Bull. Vol. 2. 1913. p. 519.

it stops all nitrogen-fixing activity. The toxic influence which becomes so very prominent above this concentration must be due entirely to the arsenic and not to the sodium ion as Lipman and Sharp¹⁾ have added many times this quantity of sodium in the form of sulphates, chlorides, and carbonates to the soil without influencing its nitrogen fixing-powers.

The lead arsenate, at the lower concentrations, has no influence upon the nitrogen fixing-powers of the soil, but when the concentration reaches 80 parts per million a stimulating influence becomes quite perceptible. This continues until the concentration exceeds 200 parts per million. Above this concentration the nitrogen fixed, within experimental error, is the same as that fixed in the untreated soil. It is interesting to note that the compound does not become toxic, even when the quantity added reaches 400 parts of arsenic per million of soil. This series shows a very close similarity to the nitrification series previously reported and it is quite likely that part of the stimulating influence is due to the lead ion.

Paris green is toxic even in the lowest concentration used and the toxicity increases as the quantity of Paris green added increases. The toxic influence is due mainly to the copper ion. However, as was shown in the previous work the quantity of soluble arsenic present would be much higher where the Paris green was added than where the other compounds were used. The fact that no stimulation occurs in the Paris green series, points to the conclusion that the toxicity of the copper must increase much more rapidly than the stimulating influence of the arsenic. Yet it is quite possible that if lower concentrations of the substance had been taken a stimulation would have been noted.

Arsenic trisulfide stimulates in the lowest concentration tested and increased in stimulating influence until a concentration of 160 parts per million is reached. In concentrations above this, it decreases in activity. In concentration of 320 parts per million and above there is fixed no more nitrogen in the presence than in the absence of arsenic. But even at the highest concentration tested, 400 parts per million, this compound exerts no toxic influence on the nitrogen fixers.

Zinc arsenite probably stimulates slightly in low concentrations but aside from this it has little apparent influence on the nitrogen gathering organisms.

The amount of nitrogen-fixed in the untreated soil of the above series shows a marked variation. This is probably due to various factors, chief amongst which was the fact that the nitrogen fixing powers of the soil with sodium arsenate, lead arsenate and Paris green were made in the order named on the air dried soil soon after it had been brought to the laboratory. While in the case of the arsenic trisulfide and zinc arsenite the soil had been in the laboratory in an air dried condition for about two months before the determinations were made. But each set of samples within each series was handled exactly the same and they are directly comparable with each other as has been done in the previous discussion. In order to make those containing different forms of arsenic more nearly comparable with each other, i. e. the lead arsenate with the arsenic trisulfide, etc., the per cent of nitrogen fixed in the untreated soil has been taken as 100 per cent, and from this the per cent calculated with each of the concentrations of arsenic. This gives us more nearly comparable results which are reported graphically in Figure 1.

¹⁾ Lipman and Sharp, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 35. 1912. p. 647.

Comparing these results with those obtained for the ammonification and nitrification series¹⁾ we find a marked similarity existing between them. In all of the series there is a marked stimulation with all of the compounds except Paris green. The arsenic trisulfide stimulates much more in the nitrogen fixing series than it does in the other series. If the concentrations yielding the highest fixation in the nitrogen fixation series be compared with the highest stimulation in the nitrification series we find the arsenic concentration to be almost exactly the same in each. It may be seen that the maximum stimulation was not obtained when equivalent quantities of arsenic in the various forms are applied to the soil. So it seems possible that there may be a relationship existing in the water soluble arsenic found in the various

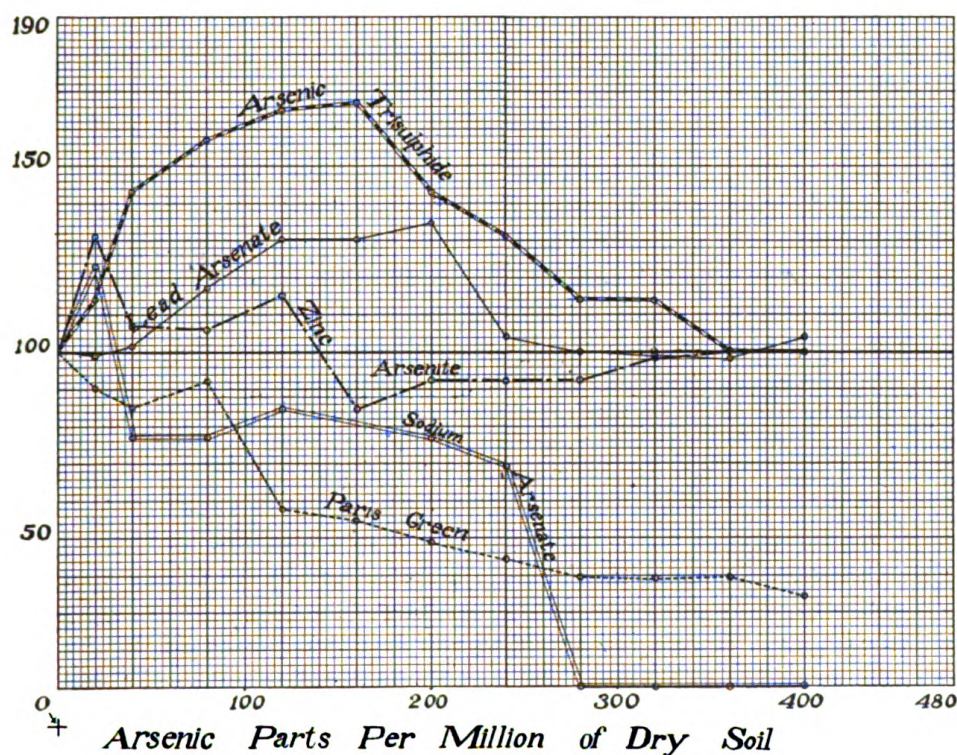


Fig. 1.

cases. In order to answer this, determinations were made of the water soluble arsenic existing in the soil. The soil and arsenic together with two grams of mannite were placed in sterile tumblers, the water content made up to 18 per cent and then incubated at 28° C. for eighteen days. At the end of this period the soil was transferred by means of 100 cc. of carbon dioxide free distilled water to large acid bottles. The mixture was left in these bottles with occasional shaking for eight days, then filtered and the arsenic determined²⁾ in an aliquot part. In another set the various forms of arsenic were mixed with 100 grams portions of soil and two grams of mannite and the water soluble arsenic determined as above without incubation.

The results are given in Table 2 as milligrams of water soluble arsenic occurring in 100 grams of the soil both before and after the three weeks incu-

¹⁾ Greaves, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 39. 1913. p. 542.

²⁾ Greaves, Journ. Amer. Chem. Soc. Vol. 35. 1913. p. 150.

bation. Each reported result is the average of three or more closely agreeing determinations.

Treatment	Lead Arsenate	Arsenic trisulfide	Sodium Arsenate
Mg. of arsenic added	16.00	16.00	2.00
Mg. " " found before incubation .	1.04	.14	1.08
Mg. " " found after incubation . .	1.26	1.42	1.44
Average	1.15	.78	1.26

The arsenic in each case became more soluble as bacterial activity progressed. This is especially marked in the soil containing arsenic trisulfide, which yielded ten times the water soluble arsenic after incubation than it did before. There is a remarkable close agreement found to exist between the results obtained for water soluble arsenic existing at the close of the incubation period, which show that the maximum stimulating influence is obtained when soil contains between 10 and 15 parts per million of water soluble arsenic. This is a quantity that exceeds that found in agricultural soil¹). Hence the influence of the arsenic occurring in soil must be to increase and not to retard nitrogen fixation. The maximum fixation varies with the form of arsenic applied. This is undoubtedly due as was pointed out under nitrification, to the elements accompanying the arsenic which may have either a retarding or accelerating influence upon the bacterial activity.

The finding of this marked stimulating influence of arsenic upon the nitrogen fixing powers of soil raises a number of very interesting and important questions. Some of these are: does this stimulating influence exist in other soil or is there something inherent within this particular soil which makes its bacterial flora susceptible to the influence of arsenic? Is the stimulating influence brought about by the retarding of injurious species or is it a direct stimulant upon the soil organisms? Does the arsenic and arsenic compounds act as a source of energy to the nitrogen-fixing organisms or do they so influence the soil flora that it can utilize more economically, the carbon compounds available? What nitrogen-fixing organisms are there in the soil which are influenced by arsenic?

In order to find whether arsenic influences the nitrogen fixing powers of other soils in a similar manner, three other soils were tested with and without arsenic. The soils varied greatly in chemical and physical compositions. Soil No. A. is a black loam of very light texture and for an arid soil, high in nitrogen and humus. It is well supplied with phosphorus, potassium, calcium carbonate, and had grown potatoes for 23 years. After this it was planted to oats for two years and during the last four had been into alfalfa. It had received some manure. Soil No. B. is a sandy loam of much lighter colour than No. A. and contained much less humus and nitrogen but an abundance of the other elements. It had been cultivated 28 years and during this time had been fallowed twice. The remainder of the time it has been into wheat. The nitrogen is low, but the soil is well supplied with phosphorus, potassium and calcium carbonate. While wet it is exceedingly sticky and on drying it bakes like an adobe. It has been tilled 23 years and during this time it has been fallowed three years. The remainder of the time it has

¹) Greaves, Biochem. Bull. 2. 1913. p. 520.

been into wheat. While it has received no manure during this time, it is still very productive.

All of the soils were very fertile and well supplied with azotobacter and previous work had shown them to have high nitrogen fixing powers.

The soils were all air dried for twenty four hours, ground in a mortar, sieved, and weighed into sterile tumblers. Some were mixed with mannite and arsenic, others with mannite while others received only arsenic. They were all incubated in the regular manner and the nitrogen determined as in the previous series. The results are given in Table 3. Each reported result is the average of six closely agreeing determinations.

Table 3.
Giving milligrams of Nitrogen fixed in 100 grams of soil with and without arsenic.
Lead Arsenate.

Soil No.	16 milligrams arsenic as lead arsenate 2 grams mannite	16 milligrams arsenic as lead arsenate no mannite	2 grams of mannite no arsenic	Total of columns 2 and 3
A	17.0	16.8	7.7	24.5
B	16.8	9.8	4.0	13.8
C	10.5	5.3	6.3	11.6
Average . .	14.66	10.63	6.0	16.63

Arsenic Trisulfide.

	16 milligrams of arsenic as arsenic trisulfide 2 g mannite	16 milligrams arsenic as arsenic trisulfide no mannite	2 g mannite no arsenic	Total of columns 2 and 3
A	16.3	15.60	13.8	29.4
B	12.6	7.0	7.6	14.6
C	10.6	5.6	4.2	9.8
Average . .	13.2	9.4	8.53	17.93

Sodium Arsenate.

	2 milligrams of arsenic as sodium arsenate 2 grams mannite	2 milligrams of arsenic as sodium arsenate no mannite	2 grams of mannite no arsenic	Total of columns 2 and 3
A	7.82	6.3	6.3	12.60
B	7.00	4.9	3.3	8.20
C	9.2	8.4	7.0	15.40
Average . .	8.01	6.53	5.53	12.07

We find a marked stimulation in every case where the arsenic and mannite were applied to the soil over the results obtained where only the mannite was applied. The action of the various arsenical compounds follow the same order in each of these soils that it did in the first soil tested, being greatest with the lead arsenate and least with the sodium arsenate. The nitrogen fixed in the presence of arsenic but in the absence of mannite is usually considerable higher than in the presence of mannite and absence of arsenic. It would not be right to conclude from these results that the arsenic furnishes a source of energy, to the nitrogen fixing organism for these soils¹⁾ have

¹⁾ Greaves, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 41. 1914. p. 456.

been found to fix appreciable quantities of nitrogen when incubated with an optimum moisture content without the addition of any carbon compound. It is likely that the arsenic makes the nitrogen gathering organism use more economically its usual source of carbon which in the absence of mannite is probably the plant debris which has been slowly added to the soil. That this is the case is strengthened by the fact that the soil rich in organic matter, soil No. A. fixes practically the same in the absence of mannite but in the presence of arsenic that it does where both arsenic and mannite are added to the soil. While the clay soil (C) which is low in organic matter fixes either less or about the same in the absence of arsenic as in the absence of mannite. It is interesting to note that in soils B and C the total fixation in the soil containing mannite plus that fixed by the soil containing arsenic approximates the series in which both arsenic and mannite are present.

It was thought that some of the questions referred to above could be answered more readily with the solution method than with the soil and for that reason a series was incubated using a solution of the following composition

0.2 gm. K_2HPO_4
 0.2 gm. $MgSO_4$
 0.2 gm. $CaCl_2$
 1 drop 10 % sol Fe_2Cl_3
 1 gram of $CaCO_3$.

This was made up to 1000 cc. with tap water distributed in 100 cc. portions into 400 cc. Erlenmeyer flasks sterilized and used for inoculation. One series was inoculated with *Azotobacter vinelandii*. This was done by making a suspension in sterile tap water of the organism and adding 5 cc. of this suspension to each flask. In the other series the inoculating medium was 10 grams of soil. The solution were incubated at 28° to 30° C. for 18 days, and then the nitrogen determined as previously outlined. The results are given in Table 4, and are reported as milligrams of nitrogen fixed in 100 cc. of the solution. Each reported result is the average of three closely agreeing determinations.

Table 4.

Giving milligrams of Nitrogen fixed in 100 cc. of nutritive solution with and without the addition of arsenic.

Treatment	milligrams of nitrogen fixed in 100 cc. of solution		
	<i>Azotobacter vinelandii</i>	10 grams soil	10 grams soil arsenical compound unsterilized
Nutritive sol. 1.5 g. mannite	14.12	15.19	15.77
„ sol. 1.5 g. mannite and .0728 g. lead arsenate	0	14.79	13.72
„ .0728 g. lead arsenate	0	1.45	.52
„ sol. 1.5 g. mannite .0272 g. As_2S_3	.5	5.98	2.05
„ .0272 g. As_2S_30	.28	.08

When the first series had been completed it was thought possible that the heat in the autoclave had changed the solubility of the arsenical compounds. For this reason analyses were made of the soluble arsenic in 100 cc. of the nutritive solution containing arsenic both before and after autoclaving. The determinations were made as previously outlined. The lead arse-

nate yielded .91 milligrams of soluble arsenic before autoclaving and .85 milligrams after autoclaving. The arsenic trisulfide yielded .40 milligrams before autoclaving and .42 milligrams after autoclaving. These results point strongly to the conclusion that the toxicity of the compound is not due to a difference in the solubility of the compound produced by the heat. In order to make more sure of this, a series was run in which the arsenic was added just before inoculation and after the solution had been autoclaved. These results are given in the last column of Table 4 and are slightly lower than those previously obtained with the arsenic. The *A. vinelandii* fixed no nitrogen in the presence of the arsenic. Even where the soil was used as the inoculating medium the lead arsenate retarded, to a certain extent, nitrogen fixation. The toxic influence of the arsenic as sulfide is very pronounced. These results show the care which must be used in drawing conclusions from the Remy solution method as to what is to be expected in soils. They greatly strengthen the contentions of Johnson¹⁾ that arsenic solutions which Nobbé²⁾ found to be toxic to seedlings in water culture and from which he concluded that arsenic, even in small quantities, is extremely toxic to plants, does not indicate that it will be toxic when in the soil. The results herein reported show arsenic to be extremely toxic to nitrogen fixing organisms while in solution, but the same concentration in the soil is not only devoid of toxicity but acts as a powerful stimulant. This therefore establishes for the bacteria what Kanda³⁾ found to be true for the higher plants, that dilute solutions of substances may be toxic when used in water culture, but the same quantity when placed in the soil may act as a stimulant.

The results reported for *Azotobacter vinelandii* when considered in connection with those obtained for the soil make it very problematic as to the part played by *Azotobacter*, especially *A. vinelandii* in the soil. It does remain a question as to the exact mode of action of the arsenic. For these reasons the soil used in the first series was plated and the main nitrogen fixing organisms isolated. Three types of *Azotobacter* were obtained which we have designated *Azotobacter A*, *Azotobacter B*, and *Azotobacter C*. *Azotobacter A* has a nitrogen fixing power of 6.86 milligrams of nitrogen per gram of mannite in Ashby solution, *Azotobacter B* with a nitrogen fixing power of 5.00 milligrams and *Azotobacter C* with a nitrogen fixing power of 6.44 milligrams of nitrogen.

The proceeding results have shown that little information of value can be obtained with the Solution Method. Therefore, another series was planned in which 100 gram portions of the soil used in the first series was weighed into covered sterile tumblers and autoclaved at a temperature of 120° C. for 30 minutes, cooled, the moisture content made up to 18 per cent and inoculated with the various organisms which had been isolated from the soil. The soils were incubated for 18 days, the moisture content kept constant and then the total nitrogen determined. Sterile blanks were incubated and analyzed as checks. Each reported result is the average of four or more closely agreeing determinations so that the analytical error has been reduced to a minimum. The results are given in Table 5.

¹⁾ Johnson, Exp. Sta. Record. Vol. 8. p. 232—233.

²⁾ Nobbé, Landw. Versuchsstat. Bd. 30. 1883. p. 381.

³⁾ Kanda, Journ. Coll. Sci. Imp. Univ. Tokyo. Vol. 19. 1904; Exp. Sta. 1904. p. 16. 228.

Table 5.
Giving nitrogen fixed in 100 grams of soil with and without arsenic and inoculated with various nitrogen fixing organisms.
milligrams of nitrogen fixed in 100 grams of soil.

Inoculated with	Soil 2 grams mannite .0728 g. lead arsenate	Soil 2 grams mannite no arsenic	Soil .0728 g lead arsenate no mannite
Azotobacter A	15.60	21.70	3.01
" B	24.15	14.70	8.80
" C	18.20	18.20	4.90
" A and B	26.31	22.05	5.81
" A, B and C . . .	18.40	17.70	6.65

The results reported above show for each organism a fixation much higher in the soil than was found in the solution. The results without arsenic but with mannite are as high as is reported in Table 1 with both mannite and arsenic combined, a fact which would seem to indicate that arsenic acts upon injurious species. This, however, does not account for the entire phenomena for we find in this series a very small fixation of nitrogen in the absence of mannite but in the presence of arsenic. While in the ordinary soil with its mixed flora as great a fixation was obtained in the presence of arsenic as in the presence of only mannite. This probably indicates that some of the stimulation is due to the action of the arsenic upon allied species which are either gathering carbon which can be used by the *Azotobacter*, or else some species, possibly the cellulose ferments, are stimulated so that they render available to the *Azotobacter* the carbon carrying compounds of the soil faster in the presence of arsenic than in its absence. Only one of the organisms isolated *Azotobacter* B is directly stimulated by arsenic. The stimulation, however, is very large in this case. It also fixes large quantities of nitrogen in the presence of arsenic and absence of mannite. These results are complicated by the carbonaceous material which occurs in the soil, for this reason a series similar to the above was incubated using silica sand in place of the soil. The silica used was devoid of organic matter and had the following composition:

SiO ₂	97.5 %
FeO	.1 %
Al ₂ O ₃	1.7 %
CaO	.2 %

One hundred gram portions of this was sterilized in covered tumblers and to each was added one gram of calcium carbonate and 18 cc. of sterile distilled water to which had been added .02 gm K₂HPO₄ .02 gm MgSO₄ and .002 gm CaCl₂. The tumblers were inoculated with the various nitrogen fixing organisms, incubated with a constant moisture content at 18° C. for 18 days and then the nitrogen determined as in the previous series. They were all compared with sterile blanks. The results are given in Table 6 as milligrams of nitrogen fixed in 100 grams of sand. Each reported result is the average of six or more closely agreeing determinations.

Qualitatively the above results are the same as those obtained with the soil. *Azotobacter* B was the only one of the three organisms stimulated by the arsenic. Where the mixed flora was used the stimulation was very marked, but the fixation in the absence of arsenic where *Azoto-*

Table 7.
Giving milligrams of nitrogen fixed in 100 grams of quartz sand with and without arsenic.

Inoculated with	Sand Ashby sol. .0728 grams lead arsenate	Sand Ashby sol. No arsenic	Sand Ashby sol. .0728 grams lead arsenate No mannite
10 cc. Soil extract . . .	19.60	10.50	4.70
Azotobacter A	17.01	22.61	.0
Azotobacter B	13.84	12.60	.0
Azotobacter C	15.10	16.80	.0

bacter A or Azotobacter C was used is about the same as that obtained in the presence of arsenic where the soil extract was used. This fact would seem to indicate that the main stimulation brought about by arsenic is due to its action upon injurious species. The results obtained in the presence of arsenic and absence of mannite indicate that the Azotobacter cannot use the arsenic as a source of energy. The small fixation where the soil extract was used may be due to the nitrogen fixing organisms obtaining a small quantity of carbon compounds from algae which may be growing in the complex flora.

Summary.

Arsenic when applied to a soil in the form of lead arsenate, sodium arsenate, arsenic trisulfide, or zinc arsenite, stimulates the nitrogen fixing powers of the soil. This is greatest when lead arsenate is applied and least when zinc arsenite is applied. Paris green did not stimulate in any of the concentrations tested. Paris green became very toxic when the concentration reached 120 parts per million, while the sodium arsenate became toxic when the concentration reached 40 parts per million and when 250 parts per million of sodium arsenate was added it entirely stopped nitrogen fixation. Lead arsenate was not toxic even at a concentration of 400 parts per million and the toxicity of arsenic trisulfide and zinc arsenite was very small at this concentration. The stimulation noted when arsenic is added to a soil is not due to any inherent peculiarity of the soil used, for soils which vary greatly in physical and chemical properties had their nitrogen fixing powers greatly increased when arsenic was applied to them. Soils high in organic matter fixed as much nitrogen in the presence of arsenic and in the absence of mannite as they did in the presence of mannite and absence of arsenic. The stimulation is greatest when the water soluble arsenic content of the soil is about 10 part per million, this quantity exceeds that found in most soils so it is likely that arsenic will stimulate in place of retard bacterial activities of soil.

Only one type of Azotobacter was isolated which was stimulated by arsenic and in this case the stimulation was due to the organism utilizing in the presence of arsenic, more economically its source of carbon than it did in the

absence of arsenic. Arsenic does not act as a source of energy to the organism. Part of the stimulation noted in the soil with its mixed flora is probably due to the arsenic inhibiting injurious species.

A quantity of arsenic which acts as a stimulant to bacteria when placed in soil may become very toxic when tested by the Remy solution method.

Nachdruck verboten.

Beiträge zu bakteriologischen Boden-Untersuchungen.

[Aus dem Laboratorium der Bakteriologisch-agronomischen Station der K. Russischen Akklimatisationsgesellschaft für Pflanzen und Tiere.]

Von A. Wojtkiewicz, Moskau.

Die vorliegenden Untersuchungen sind von mir über den Boden der Bogorodsker Farm (Gouv. Moskau) der Moskauer landwirtschaftlichen Gesellschaft ausgeführt worden. Der Zweck unserer Untersuchung war, festzustellen, ob und in welcher Weise die mikrobiologischen Prozesse im Boden durch die Bewirtschaftungsart beeinflusst werden. Außerdem beabsichtigten wir, auch den Einfluß der Jahreszeiten auf dieselben Prozesse zu verfolgen. Zu diesem Zwecke wurden folgende Bodenproben von der Achtfelderwirtschaft genommen:

- I. Schwarzbrache.
- II. Winterroggen.
- III. Kartoffel und Rüben.
- IV. Zweijähriger Klee.
- V. Hafer (das 8. Jahr der Fruchtfolge).

(Auf der Bogorodsker Farm werden folgende Fruchtfolgen angewendet: 1. Schwarzbrache, 2. Roggen, 3. Gemischte Wurzelgewächse, 4. Hafer mit Untersaat von Klee und Timotheegrass, 5, 6 u. 7. Klee mit Timotheegrass und 8. Hafer.)

Es wurden folgende Untersuchungen gemacht:

1. Keimzahlbestimmung, 2. N-Assimilationsvermögen, 3. Nitrifikation, 4. Denitrifikation, 5. Fäulniskraft, 6. Harnstoffzersetzung, 7. CO₂-Produktion.

Keimzahl. Für die Bestimmung der Keimzahl wurden folgende Nährsubstrate benutzt: Bodenextraktagar nach L ö h n i s¹⁾, Bohnenextraktagar und Fleischgelatine.

Die Zählungen der Keime wurden nach 2-tägigem Aufbewahren der Agarschalen im Thermostaten bei 30° C und 3-tägigem der Gelatineschalen bei 20—22° C vorgenommen.

Es wurden folgende Kolonien gezählt (pro 1 g des feuchten Bodens). S. Tab. p. 255.

Aus diesen Ziffern geht hervor, daß die Zahl der Bakterien im Frühjahr am höchsten, dagegen im Winter am niedrigsten ist.

Fast ähnliche Resultate haben auch H. J. C o n n²⁾ und P. E. B r o w n

¹⁾ Das Extrakt wurde für alle Untersuchungen aus ein und demselben Boden bereitet.

²⁾ Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 28. 1910. p. 422.

	Bodenextrakt- agar	Bohnenextrakt agar	Fleisch- gelatine	Gelatine- verflüssigung	Feuchtigkeit %
Winter 24. II. 12					
I	1 200 000	990 000	530 000	30 000	26,35
II	2 470 000	1 760 000	1 117 000	110 000	25,83
III	2 890 000	2 187 000	1 750 000	110 000	47,74
IV	1 325 000	900 000	770 000	90 000	27,92
V	650 000	800 000	250 000	30 000	28,68
Frühling 27. IV.					
I	1 625 000	1 310 000	810 000	130 000	28,95
II	2 285 000	2 420 000	1 070 000	260 000	27,22
III	4 250 000	5 750 000	2 445 000	470 000	26,00
IV	3 400 000	6 500 000	1 785 000	230 000	25,53
V	270 000	532 000	62 000	20 000	23,40
Sommer 10. VII.					
I	2 130 000	2 160 000	660 000	110 000	13,24
II	2 305 000	2 650 000	920 000	220 000	9,88
III	2 625 000	2 940 000	1 030 000	280 000	19,74
IV	1 750 000	1 780 000	710 000	180 000	13,20
V	1 870 000	1 625 000	840 000	190 000	11,84
Herbst 24. IX.					
I	1 835 000	2 490 000	1 050 000	121 000	19,60
II	2 375 000	2 380 000	1 350 000	103 000	20,47
III	1 700 000	2 445 000	1 570 000	89 000	22,27
IV	1 160 000	1 500 000	650 000	73 000	22,74
V	1 170 000	1 310 000	1 100 000	66 000	20,42

und R. E. Smith¹⁾ erhalten. Die letzteren erklären das Vorhandensein einer großen Zahl von Bakterien im gefrorenen Boden dadurch, daß im Boden hygroskopisches Wasser ungefroren bleibt, was den Bakterien die Möglichkeit zum Leben und zur Vermehrung gibt. Vielleicht ist es aber richtiger, anzunehmen, daß im Boden während der Sommermonate die Bakterien durch enorm sich entwickelnde Protozoen vernichtet werden, während im Frühjahr die bakterienfressenden Organismen sich noch nicht so weit entwickeln, daß sie die Zahl der Bodenbakterien beeinflussen können.

Der Vergleich des Bakteriengehaltes der von uns untersuchten Böden zeigt, daß die größte Keimzahl im Boden III vorhanden war. Dieser Boden trug in demselben Jahre Hackfrüchte, außerdem muß hier bemerkt werden, daß dieses Feld im Frühjahr mit Gülle begossen worden war, was natürlich nicht ohne Einfluß auf den Bakteriengehalt des Bodens bleiben konnte. Nachher kommt in dieser Hinsicht der Boden IV, I und V.

N - A s s i m i l a t i o n. Die Bestimmung der N-Assimilationsfähigkeit des Bodens wurde in folgender Nährlösung vorgenommen:

20,0 Mannit
0,2 K₂HPO₄
5,0 Kreide
1000,0 Leitungswasser.

Je 125 ccm dieser Lösung wurden in 500 ccm Erlenmeyerkolben verteilt und mit 10 g Boden in Form von Aufschwemmung infiziert. Was

¹⁾ La Pédologie. 1913. p. 72. Refer.

die optimale Temperatur für die N-Fixierung anbelangt, so muß ich bemerken, daß die Angaben der Autoren nicht übereinstimmen. Während Beijerinck¹⁾ angibt, daß das Optimum der Temperatur für *Azotobacter* bei 28° C liegt, sagt F. Löhnis²⁾, daß dasselbe zwischen 20° und 30° schwankt, wobei er bemerkt, daß bei 10°, 20° und 30° fast gleiche Mengen von Stickstoff gebunden werden. Ich stellte diesbezügliche Versuche bei 20° und bei 30° C an. Da die pathogenen Mikroorganismen der Bluttemperatur der Wirtstiere sich angepaßt haben, ist es wohl möglich, daß auch die Mikroorganismen des Bodens sich den Temperaturschwankungen ihres Wohnortes angepaßt haben können. Diese Schwankungen bewegen sich, wie bekannt, in großen Grenzen, besonders in Ländern mit kontinentalem Klima, wie Rußland. Von diesem Gedankengange ausgehend, stellte ich Versuche mit wechselnden Temperaturen wie folgt an: Eine Anzahl von Versuchskolben wurde bei 20° C gehalten und täglich 6 Stunden bei 30° C aufgestellt.

Es wurden folgende Resultate erhalten (die Zahlen geben N-Zunahme in mg pro Versuchskolben an):

Winter.			
	30°	30° + 16°	18°
I	0,0	0,7	0,4
II	7,3	0,9	5,5
III	0,4	9,6	8,5
IV	0,8	0,7	0,5
V	0,6	0,6	0,3
Frühling			
	30°	30° + 20°	20°
I	0,0	0,7	4,1
II	6,8	3,8	8,9
III	17,5	17,6	16,1
IV	0,5	3,5	5,8
V	0,0	0,1	10,1
Sommer			
			22°
I	4,5	10,6	11,8
II	9,4	8,7	9,9
III	9,7	9,1	14,0
IV	12,3	3,9	11,6
V	7,0	9,9	7,4
Herbst			
			20°
I	10,4	6,7	5,8
II	8,3	10,0	10,4
III	12,3	12,2	11,3
IV	9,5	6,9	4,4
V	13,2	11,4	12,0

Aus diesen Zahlen ist zu ersehen, daß, soweit der Einfluß der Jahreszeiten in Betracht kommt, das Minimum der N-Fixierungsfähigkeit des Bodens auf die Wintermonate fällt; sie zeigt folgende aufsteigende Reihe: Winter: Frühjahr : Sommer : Herbst = 1 : 2 : 2 $\frac{2}{3}$: 3.

Der Vergleich der für jeden Boden erhaltenen mittleren Werte zeigt, daß die N-Assimilationsfähigkeit durch folgende Zahlen auszudrücken ist:

¹⁾ Centralbl. f. Bakt. Bd. 7. p. 581.

²⁾ Löhnis, F., Handb. d. landwirtsch. Bakteriologie. Bd. 2. 1910. p. 687.

Boden	I	4,6	mg N
„	II	7,5	„ „
„	III	12,4	„ „
„	IV	5,1	„ „
„	V	6,0	„ „

Aus Obigem ist zu ersehen, daß im allgemeinen ein gewisses Verhältnis zwischen der Keimzahl und N-Fixierungskraft der verschiedenen Felder konstatiert werden kann.

Ich habe oben erwähnt, daß die Versuche zur Bestimmung der N-Fixierungsfähigkeit des Bodens bei 3 verschiedenen Temperaturen vorgenommen wurden. Es ist nun von Interesse, zu bemerken, daß in der Mehrzahl der Kolben eine mehr oder weniger mächtige Haut beobachtet werden konnte; die mikroskopische Betrachtung derselben zeigte, daß sie vorwiegend aus *Azotobacter* bestand.

Wenn wir die für alle Bodenproben erhaltenen Zahlen summieren, so bekommen wir für jede Jahreszeit folgende Werte:

	30°	30° + 20°	20°
	mg N	mg N	mg N
Winter	19,1	12,5	15,6
		(30° + 16 — 18°)	(18°)
Frühjahr	24,8	25,7	45,0
Sommer	32,9	42,2	54,7
			(22°)
Herbst	53,7	47,2	44,1

Hieraus ist zu entnehmen, daß während der Wintermonate die N-Assimilation bei 30° energischer ist als bei 20°. Es ist aber möglich, daß hier auch eventuell der Umstand mitgespielt hat, daß infolge einer Beschädigung des Thermostaten die Temperatur zwischen 18° und 20° schwankte. Dagegen ist im Frühling die Differenz der Einwirkung der Temperatur, und zwar zugunsten der niedrigeren (20°), sehr bedeutend. Dasselbe, obwohl nicht in so hohem Grade, ist für den Sommer zu sagen. Umgekehrt wirkt die hohe Temperatur (30°) im Herbst viel günstiger als die niedrigere.

Ich will hier noch konstatieren, daß das Optimum der N-Assimilationsfähigkeit des Bodens nicht konstant ist, sondern sich in den verschiedenen Jahreszeiten ändert, wobei diese Veränderung mit dem Wechsel der Jahreszeiten nicht Schritt hält, sondern etwas langsamer verläuft.

Was die Versuche mit wechselnder Temperatur anbetrifft, so ist zu konstatieren, daß unsere Erwartungen sich nicht verwirklicht haben. Die für diese Versuchsreihe erhaltenen Werte stehen überall etwa in der Mitte zwischen den beiden vorerst genannten Temperaturen.

Nitrifikation. Die Bestimmung der Nitrifikationskraft wurde wie folgt vorgenommen: Der Boden wurde durch ein 2 mm-Sieb gesiebt und die Feuchtigkeit bis auf 25 Proz. erhöht. Der so befeuchtete Boden wurde in Schalen von ca. 4 cm Tiefe gefüllt und 2 Tage im Thermostat bei 30° C gehalten. Vor und nach dem Versuche bestimmte ich kolorimetrisch den Nitratgehalt des Bodens in Form von N_2O_5 auf 100 g des Trockenbodens. Diese Methode ist von Prof. S. M. Bogdanoff¹⁾ vorgeschlagen worden.

Folgende Tabelle veranschaulicht die erhaltenen Resultate (s. p. 258).

Ein Blick auf diese Zahlen zeigt uns, daß die Nitrifikation nicht besonders energisch vor sich gegangen ist. Ja, in 4 Fällen ist sogar ein kleines Minus von Nitraten nach dem Versuche zu konstatieren. Nur in 2 Fällen

¹⁾ Bodenfruchtbarkeit (russisch).

Winter				Frühling			
	Nach- Versuch	Vor- Versuch	Differ.	Nach- Versuch	Vor- Versuch	Differ.	
I	1,76	1,92	= - 0,16	0,46	0,62	= - 0,16	
II	3,16	2,03	= + 1,13	0,71	0,23	= + 0,48	
III	29,84	15,92	= + 13,92	0,94	0,31	= + 0,63	
IV	1,32	0,85	= + 0,47	0,57	0,13	= + 0,44	
V	0,10	0,06	= 0,04	0,05	0,04	= + 0,01	

Sommer				Herbst			
	Nach- Versuch	Vor- Versuch	Differ.	Nach- Versuch	Vor- Versuch	Differ.	
I	5,70	4,05	= + 1,65	1,62	1,63	= - 0,01	
II	0,47	0,21	= + 0,26	0,17	0,13	= + 0,04	
III	18,70	8,00	= + 10,70	0,46	0,40	= + 0,06	
IV	0,84	0,46	= + 0,38	0,12	0,19	= - 0,07	
V	1,12	0,25	= + 0,87	0,18	0,13	= + 0,05	

ist eine abnorm hohe Nitratbildung in ein und demselben Boden vorgekommen, was darauf zurückzuführen ist, daß dieser Boden, wie früher angegeben, mit Gülle begossen worden war.

Eigentlich geben diese Versuche für die Charakterisierung der von uns untersuchten Böden keine Anhaltspunkte, da die Zahlen zu klein sind und möglicherweise sich in Fehlergrenzen bewegen. Was aber aus diesen Versuchen geschlossen werden kann, ist, daß die Methode Prof. Bogdanoffs für mikrobiologische Zwecke ungeeignet ist.

Denitrifikation. Die Versuche wurden in Giltay-Lösung ausgeführt, nur mit dem Unterschiede, daß nach dem Vorgange Ch. Barthels¹⁾ statt 0,2 Proz. 0,3 Proz. KNO_3 genommen wurden. Die Lösung hatte also folgende Zusammensetzung:

Lösung N 1.	Lösung N 2.
3,0 KNO_3	7,6 zitronensaures Kalium
1,0 Asparagin	2,0 KH_2PO_4 (Kahlbaum)
250,0 destill. Wasser	2,0 kristallis. Magnesiumsulfat
	0,2 Calciumchlorid
	Spur Fe_2Cl_3
	500,0 destill. Wasser

Die Lösungen wurden gemischt, bis zu 1 l gefüllt und je 50 ccm in 150 ccm Erlenmeyer-Kolben verteilt, sterilisiert und 5 g Boden in Form von Aufschwemmung hinzugefügt. Die Kolben wurden im Thermostat bei 20° C gehalten und jeden Tag bis zum Verschwinden die Reaktion auf Nitrat und Nitrit geprüft. Die Resultate sind in folgender Tabelle zusammengestellt (die Zahlen zeigen die Zeit, in welcher die Reaktion auf Nitrate verschwunden ist).

	Winter	Frühling	Sommer	Herbst
I	8	7	8	6
	8	5	9	5
II	4	8	5	4
	4	8	5	4
III	4	7	6	6
	5	8	6	7
IV	5	7	7	6
	6	7	5	4
V	8	9	6	6
	8	die Reakt. in 15 T. nicht verschw.	6	7

¹⁾ Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 25. 1910. p. 108.

(Die Zahlen geben die Zeit des Verschwindens der Nitratreaktion an.) Beim Durchsehen der Resultate stellten wir fest, daß die Denitrifikation im Herbst am schnellsten, im Frühling am langsamsten vor sich geht, während die Sommer- und Wintermonate eine mittlere Stellung einnehmen.

Was den Unterschied der Denitrifikationskraft der einzelnen Felder anbelangt, so zeigt die Tabelle, daß Feld II die größte und Feld V die minimalste Denitrifikationskraft aufweist.

Leider konnte ich keine quantitativen Bestimmungen der N-Verluste vornehmen, und darum sehe ich von weiteren Betrachtungen und Schlüssen ab.

Fäulniskraft. Der Versuch wurde in 1-proz. Pepton (Merck-) Lösung nach Remy ausgeführt. Die Kolben wurden 4 Tage bei 20° C (für Winterproben 6 Tage bei 16—18° C) gehalten und das entbundene Ammoniak durch Destillation mit Magnesiumoxyd bestimmt. Die in der folgenden Tabelle enthaltenen Zahlen geben das Prozent des zersetzten Peptons an:

		Winter		Frühling		Sommer		Herbst	
			Mittel		Mittel		Mittel		Mittel
I	a	52,8		44,1		50,5		58,7	
	b	50,9	51,8	46,3	45,2	52,2	51,3	55,9	57,3
II	a	55,4		42,0		50,9		58,5	
	b	56,2	55,8	46,8	44,4	48,5	49,7	60,9	59,7
III	a	51,9		43,5		53,9		59,4	
	b	53,2	52,5	45,3	44,4	42,0	47,9	57,2	58,8
IV	a	56,7		49,1		53,7		58,1	
	b	51,2	53,9	49,1	49,1	53,7	53,7	58,1	58,1
V	a	50,9		42,9		51,3		59,8	
	b	51,6	51,2	42,9	42,9	52,8	52,0	62,4	61,1
Mittel Zahlen			53,0		45,2		50,9		58,9

Beim Vergleiche der erhaltenen Resultate sehe ich von den Zahlen der Winterproben ab, da, wie ich eben erwähnte, die Versuchsdauer bei diesen etwas länger war. Was die übrigen Jahreszeiten anbelangt, so lassen sie sich in folgender aufsteigender Reihe anordnen: Herbst, Sommer, Frühling. In dieser Hinsicht beobachten wir einen gewissen Parallelismus zwischen der Fäulniskraft und Energie der N-Assimilation, denn im letzteren Falle lassen die Jahreszeiten sich in derselben Weise gruppieren.

Was die Unterschiede in dieser Beziehung zwischen verschiedenen Bodenproben anbelangt, so zeigt die Tabelle, daß die Fäulniskraft der von uns untersuchten Felder keine besonders bemerkbaren Schwankungen aufweist. Da Remy¹⁾ auf Grund der Bestimmung der Fäulniskraft verschiedener Böden auf die Art und Fruchtbarkeit der Böden Rückschlüsse macht, so lasse ich es dahingestellt, ob die Gleichheit meiner Resultate auf die Ähnlichkeit der verschiedenen Felder schließen läßt oder ob sie in der Unzulänglichkeit der Methode begründet ist.

Harnstoffzersetzung. Für die Bestimmung der Harnstoffzersetzung benutzte ich folgende Nährlösung: Fleischbouillon (ohne Pepton) + 0,5 Proz. Kochsalz + 10 Proz. Harnstoff. Die Versuchsbedingungen waren dieselben wie bei der Fäulniskraft-Bestimmung. Versuchsdauer 2 und 4 Tage. Das gebildete Ammoniak wurde mit n/10 H₂SO₄ titriert. Die in der Tabelle (p. 260) enthaltenen Zahlen geben das Prozent des zersetzten Harnstoffes an.

Wie aus der Tabelle zu sehen ist, stimmen die Zahlen der 2- und 4-tägigen Versuche nicht überein. Ebenso sind die Parallelzahlen nicht besonders ein-

¹⁾ Centralbl. f. Bakt. Bd. 8. p. 657.

		Winter		Frühling	
		Nach zwei Tagen	Nach zwei Tagen	Nach vier Tagen	Nach vier Tagen
		Mittel	Mittel	Mittel	Mittel
I	a	28,5	21,6	20,5	68,5
	b	68,7	19,5	66,6	
II	a	38,7	87,3	75,6	74,5
	b	39,3	40,5	73,5	
III	a	23,7	38,1	73,5	75,7
	b	19,5	?	78,0	
IV	a	21,0	57,0	66,9	63,9
	b	8,7	22,8	60,9	
V	a	0,9	40,0	27,4	26,3
	b	2,7	21,3	28,2	
Mittel Zahlen		25,2	38,7	62,0	

		Sommer		Herbst	
		Nach zwei Tagen	Nach vier Tagen	Nach 2 Tagen	Nach vier Tagen
		Mittel	mittel	mittel	mittel
I	a	19,5	48,9	5,7	72,6
	b	13,8	48,3	7,5	73,8
II	a	12,0	48,0	8,7	63,9
	b	11,7	48,6	9,6	65,7
III	a	31,5	48,3	16,8	75,0
	b	32,4	48,6	15,6	73,8
IV	a	22,8	47,7	9,6	76,5
	b	19,8	49,5	3,6	78,9
V	a	22,2	47,4	12,0	81,9
	b	24,0	48,0	9,9	77,1
Mittelzahlen		20,9	48,3	9,9	73,9

wandfrei. Aus diesen zwei Gründen enthalte ich mich der weiteren Erörterungen der Versuchsergebnisse.

Kohlensäure-Produktion. Die Versuche wurden folgendermaßen vorgenommen: 20 cm hohe und 7 cm breite Glaszylinder wurden mit 500 g gesiebt und bis 25 Proz. befeuchteten Bodens gefüllt. Durch diese Zylinder wurden täglich 10 l CO₂-freie Luft hindurchgetrieben und die CO₂ in Liebig's Kaliapparat aufgefangen. Die Wägung geschah je nach 1 und 5 Tagen. Die Versuchstemperatur schwankte zwischen 14°—18° C. Diese Bestimmung wurde nur für die Herbstproben ausgeführt. Die Resultate sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt:

(Die Zahlen zeigen mg CO₂ auf 1 kg Boden 28 Proz. feucht umgerechnet.)

I. Boden	46	70	116
II. „	48	100	148
III. „	58	99	157
IV. „	60	107	167
V. „	39	72	111

Die Tabelle zeigt, daß die verschiedenen Felder ein und derselben Fruchtfolge keine besonders nennenswerten Unterschiede aufweisen. Stoklasa¹⁾ und van Suchtelen²⁾ sagen, daß die Intensität der CO₂-Produktion Hand in Hand geht mit dem Keimgehalt des Bodens. Der Vergleich der Zahlen dieser Versuche mit der Keimzahl der Böden führt uns aber zu dem Schlusse, daß das nicht der Fall ist. Mit anderen Worten, es besteht kein eigentlicher Parallelismus zwischen diesen zwei Erscheinungen. Zu diesem letzten Schluß

¹⁾ La Pédologie. Petersburg 1912. p. 103. Refer.

²⁾ Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 28. p. 45.

kommt auch Kalantarian bei seinen diesbezüglichen Untersuchungen über Tschernosem¹⁾).

Die Resultate der vorliegenden Arbeit lassen sich in folgenden Worten kurz zusammenfassen:

1. Die Keimzahl des Bodens unterliegt keinen extremen Schwankungen während des Jahres. Das Maximum der Keimzahl kommt dem Frühling, das Minimum dem Winter zu.

2. Das N-Assimilationsvermögen des Bodens wechselt mit der Jahreszeit stark. Das Minimum kommt hier ebenso dem Winter zu, das Maximum aber dem Herbst.

3. Im allgemeinen scheint ein gewisser Parallelismus zwischen Keimzahl und N-Assimilierungsfähigkeit zu bestehen.

4. Das Optimum der Temperatur für N-fixierende Bakterien ändert sich mit der Jahreszeit, aber etwas langsamer.

5. Die Temperaturschwankungen während des Tages üben keinen Einfluß aus.

6. Die übrigen von uns ausgeführten Untersuchungen, wie Nitrifikation (nach Prof. Bogdanoff), Denitrifikation, Fäulniskraft, Harnstoffzersetzung, CO₂-Produktion geben keine bestimmten, genügenden Resultate.

Nachdruck verboten.

Verbesserte Bereitung von Sauerfutter.

(Milchsäureensilage.)

Von Prof. Dr. Costantino Gorini,

Direktor

des bakteriologischen Laboratoriums der Kgl. landwirtschaftlichen Hochschule zu Mailand.

Mit 1 Abbildung.

Seit 10 Jahren bin ich damit beschäftigt, bakteriologische Untersuchungen von Sauerfutter (Ensilage) auszuführen. Über diesen Gegenstand habe ich vom Wirtschaftsjahre 1904—1905 ab 7 Berichte in dem durch die hiesige landwirtschaftliche Hochschule herausgegebenen Jahrbuche des „Landwirtschaftlichen Instituts P o n t i“, welches meine Studien unterstützt, veröffentlicht²⁾.

Ich halte es für gut, hier eine Zusammenfassung dieser Versuche nach ihren Hauptpunkten zu geben: Im Jahre 1904 habe ich damit begonnen, die Mikroflora und die Gärungsprozesse des Sauerfutters, das in verschiedener Weise, unter Anwendung verschiedener Futterarten und in verschiedenen Räumlichkeiten bereitet war, zu untersuchen. Auf Grund von Milchkulturen habe ich ein bakteriologisches Kontrollverfahren aufgestellt, und 4 Typen von Sauerfutter unterschieden:

¹⁾ Kalantarian, P., Dissertation. Leipzig 1911.

²⁾ Gorini, C., Ricerche batteriologiche sui foraggi conservati nei silos. (Annuario d. Istit. Agrar. Dr. Andrea Ponti, presso la R. Scuola Super. di Agricolt. di Milano. Anni rurali 1904, 1905, 1906, 1907, 1908, 1909, 1910, 1911, 1912, 1913).

1. Silotypus mit einer Mikroflora, die vorwiegend aus Buttersäurebakterien besteht,
2. Silotypus mit einer Mikroflora, die vorwiegend aus Milchsäurebakterien besteht,
3. Silotypus mit einer vorwiegend fäulniserregenden Mikroflora,
4. Silotypus mit äußerst geringer oder unbedeutender Mikroflora.

In einer und derselben Sauerfuttoreinlage können sich Partien befinden, die zu den verschiedenen Typen gehören, und zwar je nach der Art der eingelegten Futtermittel und nach den beim Belasten befolgten Normen. Den beiden ersten Typen entsprechen die gut ausgefallenen normalen Sauerfutterarten, den beiden andern die schlecht ausgefallenen oder anormalen.

Jedoch ist zwischen dem ersten und zweiten Typus, welche beide nach Farbe, Geruch, Feuchtigkeit und Konsistenz normal sind, ein gewisser Unterschied vorhanden; der zweite Typus hat eine lebhaftere Farbe und einen weniger sauern Geruch. Dieses Sauerfutter, in welchem die Milchsäurebakterien vorwiegen, kommt zustande, wenn die Temperatur niemals über 50° C steigt, während das Sauerfutter mit Buttersäurebakterien zuwege gebracht wird bei Temperaturen, die nahe an 60° C herankommen. Meine Versuche zeigen also den Einfluß, der außer durch den Feuchtigkeitsgrad der Futterarten durch die bei der Belastung erreichte Temperatur des Sauerfutters auf die Mikroflora desselben ausgeübt wird. Die Temperatur steht bekanntlich in Beziehung zu dem Grade des Zusammendrückens des Futters und dieser wiederum in Beziehung zu der Art und Weise, wie die Futtergrube angelegt ist. Die Temperatur ist, im ganzen genommen, der zusammenfassende Exponent mehrerer Faktoren; nach ihr muß die Gärung des Sauerfutters geregelt werden!

Bisher hat man in praktischer Hinsicht immer einen Unterschied gemacht zwischen süßer und saurer Ensilage, aber die jetzigen Untersuchungen haben gezeigt, daß es unter den normalen Silo eine wirklich süße, d. h. alkalische oder neutrale und nicht saure Ensilage gar nicht gibt.

Alle Ensilagen, mit Ausnahme der anormalen, nämlich derjenigen mit fäulniserregender oder zu geringer Mikroflora, sind mehr oder weniger sauer. Aus meinen milchbakteriologischen Untersuchungen geht hervor, daß die normalen Sauerfutterarten einer Gärung, die entweder von vorwiegenden Milchsäurebakterien oder von vorwiegenden Buttersäurebakterien bewirkt wird, unterworfen sind; diese Bakterienarten müssen aber eine Säuerung des eingelegten Futters hervorrufen. Der Unterschied zwischen der Milchsäureensilage und der Buttersäureensilage ist festzustellen nicht nach dem Auftreten oder dem Ausbleiben der sauern Reaktion, sondern nach dem Säuregrade und nach der Säureart, welcher sich aus chemischen Bestimmungen ergibt. Die Unterscheidung also von saurer und süßer Ensilage läßt sich nicht aufrechterhalten und muß ersetzt werden durch eine Unterscheidung, die sich auf die verschiedenartige vorherrschende Gärungsrichtung stützt, welche in dem Futter vor sich gegangen ist.

Dieser Unterschied ist im Sauerfutter von besonderer Bedeutung für die Darmflora und die fäkale Flora des Rindviehs und für die Herstellung von Molkereiprodukten.

Buttersäureensilage kommt, wie ich nur zu oft wahrgenommen habe, bei den meisten auf gewöhnliche Weise bereiteten Sauerfuttern vor; sie ist am ehesten nachteilig, sei es wegen des Geruches und Geschmacks, den sie der Milch und der Butter erteilen kann, sei es wegen der Blähungserscheinungen,

die ihre Mikroflora in den Käsen hervorzurufen vermag. Außerdem kann sie auch nachteilig auf die Darmfunktionen des Rindviehs wirken, und zwar wegen des Gehalts an Buttersäurebakterien. Hingegen bietet die Milchsäureensilage, wie ich auch manchmal beobachtet habe, keine Unbequemlichkeiten, sondern erweist sich vielmehr als vorteilhaft für die Verdauungsprozesse. Ich habe eine Beschreibung der Milchsäurebakterien gegeben, die sich in demselben vorfinden, und habe gezeigt, daß sie von derselben Art wie diejenigen der normalen Gärungsprozesse der Milch und des Käses sind, welche ja bekanntlich auch so förderlich für die gastrointestinalen Gärungen sind.

Aus diesen Gründen ist namentlich für das Milchvieh dasjenige Sauerfutter anzupfehlen, das nach der von mir vorgeschlagenen milchbakteriologischen Prüfungsweise eine Flora besitzt, die vorwiegend aus Milchsäurebakterien besteht. Ein solches Sauerfutter kommt durch eine nicht zu hohe Temperatur zustande; deswegen ist es ratsam, während der Belastung des Futters die Temperatur zu überwachen, indem man darauf achtet, daß sie sich stets unterhalb 50° C befindet. Außerdem sind noch andere Koeffizienten von Wichtigkeit, um eine gute Gärungsrichtung zu sichern, nämlich ein geeigneter Grad der Feuchtigkeit, des Drucks, der Anaërobiose; besonders aber dürfen niemals die gewünschten Bakterien ausbleiben, die gerade den Charakter der Milchsäuregärung hervorbringen.

Die Milchsäurebakterien sind in der Natur weit verbreitet und finden sich überhaupt in allen Futterarten vor (ich habe sie selbst in den höheren Gebirgen getroffen¹⁾); sie sind aber darin nicht immer in einer solchen Menge und mit einer solchen Virulenz (Milchsäurebildung) vorhanden, daß diese Umstände ihre Vorherrschaft vor den andern Bakterien, die ihnen als Gegner gegenüberstehen, sichern. Daher erscheint es folgerichtig und empfehlenswert, dem einzulegenden Futter Reinkulturen von Milchsäurebakterien zuzusetzen, wie ich im Jahre 1907 vorgeschlagen habe.

Um die praktische Bedeutung meines Vorschlages praktisch nachweisen zu können, nahm ich sehr gern die Dienste an, die mir die landwirtschaftlichen Wanderlehrinstitute zu Piacenza und Udine zur Veranstaltung von Versuchen anboten.

Es wurden von 1910 ab zu Piacenza vergleichende Versuche mit zwei Sauerfuttersilos, welche kleine Dimensionen hatten und eigens zu dem Zwecke angelegt waren, ausgeführt. Das eine diente zur Kontrolle, in dem andern fand die Aussaat der Milchsäurebakterien statt. Das erhaltene Resultat sprach zugunsten der Zufügung dieser Mikroben.

Die Versuche wurden im Jahre 1912 zu S. Giorgio di Nogaro in der Provinz Udine auf den Gütern von Dr. M a r g r e t h wiederholt und führten zu guten Resultaten, wie meine Untersuchungen des eingelegten Futters nach der bakteriologischen Seite und die chemischen Untersuchungen von Dr. D o m e n i c o F e r u g l i o, Direktor des Laboratoriums für landwirtschaftliche Chemie der Landwirtschaftsgesellschaft für Friaul, beweisen.

Von besonderem Interesse sind die Resultate der chemischen Analysen, da aus denselben hervorgeht, daß das Futter mit den Milchsäurebakterien einen höhern Grad von Säure, einen geringeren Verlust an Proteinstickstoff und einen geringeren Verbrauch von Zuckerarten während des Gärungsprozesses zeigte. Es hatte sich also, kurz gesagt, ein günstiger Einfluß der Milchsäurebakterien auf die Erhaltung des Futters geltend gemacht.

¹⁾ Gorini, C., Rendiconti R. Ist. Lomb. Sc. e Lett. Ser. 2. Vol. 48. 1910. p. 777.

Im verflossenen Jahre wurden neue vergleichende Versuche zu Piacenza in den beiden Silos des Wanderlehrinstituts ausgeführt. Das angewandte Futter bestand aus Luzerne vom zweiten Schnitt; die Silos wurden im Juni gefüllt und die Temperatur wurde während der Belastung in der Weise geregelt, daß sie niemals 40—50° C überschritt. Die Silos wurden oben mit einer 60 cm hohen Schicht Sand abgeschlossen. Im Verlaufe des Januars wurde geöffnet, und es zeigte sich, daß, wenn auch das Futter der beiden Gruben vollkommen erhalten war, dasjenige der Grube mit dem Zusatz von Milchsäurebakterien eine grünere Farbe aufwies und einen feineren Geruch hatte, sowie daß die



Fig. 1.

verschiedenen Teile der Pflanzen sich in einem Zustande besserer Erhaltung befanden. Die Stengel und die Blättchen hatten nichts von ihrem ursprünglichen Aussehen verloren, so daß es geradezu schien, als ob man frisches Futter vor sich hätte¹⁾. (S. Abbildung.)

Ich entnahm Proben für die bakteriologischen Untersuchungen und die chemischen Analysen. Die ersteren bestätigten, was schon vorläufig hinsichtlich der Entwicklung und der Wirkung der Milchsäurebakterien festgestellt worden war; die letzteren bestätigten die bei den Versuchen in Friaul erhaltenen Resultate betreffs der Feuchtigkeit, der Gesamtsäure und des Stickstoffs.

Diese Versuche sprechen also entschieden zugunsten der Anwendung der Milchsäurebakterien.

¹⁾ Siehe am Ende: Anhang.

Es wird nunmehr erforderlich sein, die Versuche auszudehnen und sie mit großen Futtermassen zu wiederholen; dies gedenke ich in der nächsten Saison vorzunehmen.

Ich hoffe, daß meine Studien eine nutzenbringende Umgestaltung des Einsäuerns herbeiführen werden, da dies ein wirklicher Vorteil sowohl für die Ernährung des Rindviehs als auch für den Molkereibetrieb sein würde. Dieser Vorteil würde auch eine weitere Verbreitung und eine reichlichere Anwendung des Sauerfutters auch beim Milchvieh herbeiführen.

Die Bereitung von Sauerfutter darf nun nicht mehr als ein letztes Hilfsmittel für den schlimmsten Fall angesehen werden, um ein naß gewordenes, unbrauchbares Futter zu verwerten; sie muß vielmehr als ein normales und nützliches Mittel gelten, um gutes Futter im grünen Zustande aufzubewahren. Das Sauerfutter darf nun nicht mehr für ein wenig nahrhaftes und geradezu nachteiliges Futter gehalten werden; es muß vielmehr als ein für die Ernährung der Tiere im Winter und für die Darmfunktionen derselben zweckdienliches Futter betrachtet werden. Das Sauerfutter darf auch nicht mehr als ein für die Meiereien bedenkliches, sondern als ein auch für diese vorteilhaftes Futter angesehen werden.

Es genügt, vermitteltst des Zusatzes von Milchsäureerregern und der Herabsetzung der Gärungstemperatur, wie ich vorgeschlagen habe, *Milchsäureensilage* anstatt, wie üblich, *Buttersäureensilage* zu bereiten.

Anhang.

Die Photographie wurde von Prof. Dr. Ferruccio Zago, Direktor des landwirtschaftlichen Wanderlehrinstituts zu Piacenza, gemacht. („L'Italia Agricola“. Piacenza, 15. März 1914.)

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Kenntnis des Saugphänomens der Blattläuse und der Reaktionen der Pflanzenzellen.

Anatomisch-cytologische Studien an Pflanzen und Pflanzenläusen.

[Mitteilungen aus dem botanischen Versuchs-Laboratorium und Laboratorium für Pflanzenkrankheiten des k. k. oenolog.-pomolog. Institutes in Klosterneuburg. Neue Folge. No. 7.]

Von Dr. Fritz Zweigelt.

Mit 2 Tafeln und 7 Textfiguren.

Inhaltsverzeichnis.	Seite
Einleitung	266
Töten, Konservieren und Färben des Untersuchungsmaterials	267
Der Saugapparat der Blattläuse	269
Speicheldrüsen	271
Vordringen der Borsten unter Ausscheidung von Speichelsekret	272
Die Scheide	274
Chemismus des Sekretes	280
Das Saugphänomen	284
Rolle der Epidermiszellen und Spaltöffnungen beim Eindringen der Borsten	294
Stichverlauf im Pflanzengewebe	298
Nahrungsquellen	300
Reaktionen der Zellen	304

Der Gerbstoff und seine Rolle	317
Kristallbehälter	319
Öldrüsen	323
Anthokyan	324
Borstenspitze und Sinnesorgane	325
Blattläuse an meristematischem Gewebe	328
Blattläuse und Milben	329
Resumé	330
Literaturnachweis	332
Figurenerklärung	334

Einleitung.

Die Ursachen dafür, daß über dieses unstreitig schwierige Kapitel aus dem Leben der Pflanzenläuse in den meisten Handbüchern und vielen Spezialarbeiten, namentlich auf botanischem Gebiete, stillschweigend hinweggegangen wird oder eine kurze Wiedergabe älterer Beobachtungen Platz greift, sind, wie mir scheint, in mehreren Momenten zu suchen: Einmal ist es bei der Kleinheit der Tiere äußerst schwer, dem Sauggeschäft nachzuspüren — und Rasiermesserschnitte genügen in solchen Fällen meist wohl nicht — weitere Schwierigkeiten bietet es, die Tiere so zu töten, daß sie den Zusammenhang mit der Wirtspflanze bewahren und das so konservierte Material nachträglich ein naturgetreues Bild eines Augenblickszustandes in der Nahrungsaufnahme liefert, und dann liegt gerade eine solche Untersuchung an der Grenze zweier Wissensgebiete, der Zoologie und Botanik, so daß die Bearbeitung — abgesehen davon, daß man auch noch Chemiker sein sollte — naturgemäß etwas einseitig ausfallen wird. Die zahlreichen Abhandlungen, die zoologischerseits über die Wirkungsweise der Mundteile und deren Anhangsgebilde, wie des Oesophagus, geschrieben worden sind, überschätzen, wie mir scheint und wie noch später zu erörtern sein wird, zu sehr die Arbeitskraft, die dem Mechanismus der Saugwerkzeuge in Verbindung mit komplizierten Muskelzügen innewohnt, tragen vielleicht auch zu sehr Anschauungen über die Nahrungsaufnahme blutsaugender Insekten in die Pflanzenpathologie herüber, ohne allerdings irgend ein beweiskräftiges Moment anführen zu können. Auf botanischem Gebiete, wo, wenn ich recht urteile, der Schlüssel zur Lösung dieser eminent wichtigen Frage gelegen ist, sind die Untersuchungen etwas spärlicher ausgefallen und es ist bezeichnend, daß die meisten Autoren, da sie nicht eigene Beobachtungen angestellt haben, auf Büs gen¹⁾ zurückgreifen, dessen Untersuchungen in sehr vielen Belangen heute noch als maßgebend gelten müssen. Versuche, etwaige Mängel zu beseitigen und manches Unverständliche auszuschalten, sind nur wenige unternommen worden, und namentlich gebührt Petri²⁾ das Verdienst, manche Detailfrage korrigiert zu haben, was in Verbindung mit meinen Beobachtungen zur Aufklärung der Frage nach dem „Wie“ der Nahrungsaufnahme bei Pflanzenläusen wesentlich beitragen wird. Auf noch einen Mangel hinzuweisen, sei mir hier gestattet. Die Zoologen hören mit ihren Untersuchungen zu früh auf, die Botaniker fangen zu spät an und viele wenden erst dann ihr Augenmerk der Tätigkeit der Pflanzenläuse zu, wenn bereits Gallenbildungen in die Erscheinung getreten sind. Die Folge davon ist eine empfindliche Lücke in den Bildern, weil wir namentlich über

¹⁾ Büs gen, M., Der Honigtau. Biologische Studien an Pflanzen und Pflanzenläusen. Jena 1891.

²⁾ Petri, L., In zahlreichen Arbeiten, auf die im einzelnen noch zurückzukommen sein wird.

gewisse Erscheinungen, z. B. das Auftreten von Speichelsekret und seine Provenienz von den Speicheldrüsen, nur auf Wahrscheinlichkeitsschlüsse angewiesen sind, welche Frage sich allerdings kaum je auf dem Wege direkter Beobachtung, sondern höchstens genauer chemischer Analysen dieser subtilen Dinge wird beantworten lassen. Die Untersuchung der unmittelbaren Veränderungen, die an den Zellen der angestochenen Pflanzenteile vor sich gehen, hat aber nicht nur für die Aufhellung des Saugphänomens selbst hohen Wert, sondern ist, wie mir scheint, auch in hervorragender Weise geeignet, Licht in die Ätiologie der Gallenbildungen durch Läuse zu werfen; stehen wir hier doch an jener Grenze, wo in vielen Fällen schon echte Gallen auftreten, in anderen aus uns nicht näher bekannten Gründen solche jedoch unterbleiben; und jede noch so unbedeutende Veränderung an den in Mitleidenschaft gezogenen Zellen muß für uns von größtem Interesse sein. Über die Gallenbildungen durch Aphiden sind bereits einige Untersuchungen abgeschlossen und werden demnächst veröffentlicht werden.

Wenn ich nunmehr meine Untersuchungen der Öffentlichkeit übergebe, bin ich mir wohl all der Schwierigkeiten bewußt, die sich der Lösung solcher Fragen entgegenstellen, und bin weit davon entfernt zu glauben, damit bereits eine völlige Klärung herbeigeführt zu haben. Sehr viele Fragen: so die Rolle der Kristallbehälter, des Gerbstoffes und manches andere werden vielleicht noch lange offen bleiben, da wir über die chemischen Vorgänge im Pflanzenkörper vielfach zu dürftig unterrichtet sind, doch habe ich geglaubt, meine Beobachtungen nicht verschweigen zu sollen, da dieselben in Verbindung mit den Untersuchungsergebnissen späterer Forscher zweifellos zur Befriedigung unseres Strebens nach Wahrheit und richtiger Erfassung der Vorgänge in der Natur beitragen dürften. Daß in meinen Untersuchungen die Beobachtungen an den mikroskopischen Bildern in Verbindung mit mikrochemischen Reaktionen die Grundlage bildeten, schließt selbstverständlich nicht aus, daß vielerorts auch die Spekulation in ihre Rechte trat. Gerade bei Erklärungsversuchen von Vorgängen, die an sich nicht beobachtet werden können, und für welche uns im günstigsten Falle eine Reihe von Augenblicksbildern zur Verfügung stehen, werden wir in Übereinstimmung mit allen Forschern auf ähnlichen Gebieten ihrer nicht völlig entraten können. Obwohl die Arbeit eine vorwiegend botanische ist, war es nicht zu umgehen, auch die zoologische Literatur zu verwerten und den Saugapparat der Tiere in gedrängter Form zu besprechen. Hier möchte ich es auch nicht versäumen, meinem hochgeschätzten Chef, Herrn Prof. Dr. Ludwig Linsbauer, für die vielen Anregungen während der Untersuchungen und das jederzeit bekundete lebhafteste Interesse wärmstens zu danken.

Töten, Konservieren und Färben des Untersuchungsmaterials.

Wenngleich der Verlauf der Stiche auch nach dem Abfallen der Läuse durch die Ablagerung von Speichel im Stichkanal festgehalten wird, ist es doch für eine Reihe von Detailfragen notwendig, die Tiere so zu konservieren, daß sie in Zusammenhang mit der Wirtspflanze verbleiben. Stoll¹⁾ verwendete für diesen Zweck Äther, Büsgen eben noch nicht kochenden Alkohol, der die Tiere so rasch tötete, daß sie nicht mehr Zeit fanden, die Borsten aus der Wunde zu ziehen. Mit Rücksicht auf die Wichtigkeit, an den Schnittserien auch die Tiere gut erhalten zu haben, ersetzte ich Äther

¹⁾ Nach einer Angabe von Büsgen.

und heißen Alkohol zunächst durch eine wässrige Sublimatlösung, die mit einigen Tropfen Essigsäure versetzt in heißem Zustande (unter 50° C) auf kurze, stark mit Läusen besetzte Stengel- und Blattstückchen gegossen wurde. Der Erfolg war ein ausgezeichneter: mindestens 90 Proz. aller Tiere blieben, sofort getötet, in der gewünschten Lage. Selbstredend sind hierfür nicht alle Aphiden in gleicher Weise geeignet. Während sich so zahlreiche träge grüne und schwarze Läuse und besonders die jungen Tiere sehr gut töten und fixieren ließen, gingen von der auf *Artemisia Absinthium* lebenden *Siphonophora absinthii* die meisten schon beim Abschneiden der Stengelstücke durch und namentlich fand ich auch die *Lachnus*-Arten sehr lebhaft, so daß in solchen Fällen die Untersuchung auf die von den Tieren selbst konservierten Stichkanäle beschränkt bleiben mußte. Wie ich mich allerdings überzeugen konnte, hatte dieses Verfahren mit Rücksicht auf das langsame Eindringen der Konservierungsflüssigkeit in das Pflanzengewebe einen für das Studium der cytologischen Verhältnisse unerwünschten, merklichen Nachteil, weshalb ich später eine alkoholische Sublimatlösung mit der wässrigen vertauschte. Allerdings war es dabei nicht zu umgehen, daß die Konservierung des Tieres dadurch beeinträchtigt wurde. Ein weiterer Vorteil der Verwendung alkoholischen Sublimats besteht darin, daß die Objekte rasch untertauchen und die zwischen den Tieren und der Pflanze oft hartnäckig haftende Luft rasch vertrieben wird, während im wässrigen Sublimat, namentlich wenn die Tiere in Blattrollen sitzen, die Luft, die die Objekte zum Schneiden untauglich macht, kaum zu entfernen ist.

Es ist, wie ich mich auch beim Färben der Mikrotomschnitte überzeugen konnte, nicht möglich, Tiere und Pflanzen gleichzeitig und gleich gut zu bekommen, da die Tiere gegenüber Fixierungsmitteln viel empfindlicher sind, und hier die Farbstoffe viel rascher und intensiver einwirken als bei der Pflanze. Diese so fixierten, nachher gewässerten und mit Jod gewaschenen Präparate wanderten die Alkoholreihe hinauf über Xylol in Paraffin von mittlerer Härte, in dem sie mindestens eine Woche verblieben. Empfehlen möchte ich, die Übertragung der Objekte von absolutem Alkohol in Xylol, von dort in Paraffin und schließlich die Einbettung möglichst vorsichtig vorzunehmen, ein rasches Vorbeiströmen der Flüssigkeiten und direktes Anfassen der Stücke mit Instrumenten zu vermeiden, da die Tiere in diesen Medien sehr leicht abfallen und der Erfolg vereitelt werden könnte. Zur Färbung der Mikrotomschnitte, an denen mir es hauptsächlich galt, die Stiche rasch verfolgen zu können und die histologischen Details hinreichend deutlich differenziert zu erhalten, verwendete ich hauptsächlich wässriges oder alkoholisches Safranin, das die mit Speichelsekret erfüllten Stichkanäle lebhaft rot färbte. Ebenso gut eignete sich zur Färbung Karbolsäurefuchsin, das das Sekret in blaurotem Ton erscheinen ließ, während Hämatoxylin (nach Ehrlich) und Eosin, die beliebten Farbstoffe zur Doppelfärbung der Tiere, das Sekret ebenso wenig färbten als Gentianaviolett. Da jedoch namentlich Hämatoxylin im Gegensatz zu Safranin Zellulose lebhaft färbt und auch andere cytologische Details gut zeigte, und bei einiger Übung es auch nicht schwer fällt, ungefärbte Stichkanäle aufzufinden, nahm ich an verschiedenen Objektträgern einer Schnittserie meist beide Färbungen vor. Für Lebendfärbungen empfahl Büsgen Millons Reagens, während ich eine schwache Lösung von Methylenblau (nach Gottheil) vorzog. Abgesehen davon, daß sich das Blattlaussekret leuchtend blau färbt, wird

auch der Gerbstoff der Zellen als gerbsaures Methylen gefällt deutlich sichtbar und außerdem färben sich die verholzten Wände der Gefäße. Auch wurde es an solchen Objekten möglich, über die physikalische Beschaffenheit des Speichels Aufschluß zu gewinnen.

Als Untersuchungsmaterial dienten mir Kolonien folgender Blattläuse auf den beistehenden Wirtspflanzen: *Aphis rumicis* L.¹⁾ (= *Aphis evonymi* F. = *Aphis papaveris* F.), auf Stengeln, Blättern und Triebspitzen von *Evonymus europ.*; *Aphis grossulariae* Kalt., in der Region der Triebspitzen wie an jungen Blättern und Stengeln von *Ribes aureum* und *rubrum*; die bekannte Rosenblattlaus, *Siphonophora rosae* (L.), an den Blattstielen und Blättern von *Rosa*; *Siphonophora absinthii* L., an den von ihr dicht bevölkerten Stengeln von *Artemisia absinthium*, welche Pflanze allem Anscheine nach ohne Schaden den Parasiten verträgt; die dichten schwarzen Kolonien von *Aphis sambuci* L. auf Stengeln von *Sambucus nigra*; eine dunkel schwarzgrüne Blattlaus (wahrscheinlich *Aphis capsellae* Koch), auf Stengeln von *Capsella bursa pastoris*; *Aphis avenae* Fabr. (syn. *Aphis padi* L. [Kalt.]), auf jungen Stengelpartien von *Prunus padus*, eine schwarze Blattlaus (vermutlich eine *Siphonophora*), auf Weberkard (Dipsacus Fullonum); die in zu blasigen Gallen umgewandelten Blättern des Apfelbaumes wohnende *Aphis piri* Boyer et Touse; grüne Blattläuse auf Pferdebohne, schließlich beobachtete ich die Empfindlichkeit der Läuse gegen Wasserverlust in der Pflanze an *Siphonophora millefolii* F. auf *Achillea Millefolium*.

Stichverlauf und Veränderungen in den getroffenen oder doch in Mitteleidenschaft gezogenen Zellen wurden vornehmlich an Querschnitten, teils auch Flächen- und radialen Längsschnitten studiert. Die auffallendste Erscheinung ist an blattlausbefallenen Geweben stets das Auftreten lebhaft sich färbender, vielfach verzweigter und verästelter Kanäle und Linien, die mit verschiedenen Variationen von der Peripherie meist gegen die Elemente der Gefäßbündel zu vordringen und sich dort durch besonders reiche Verästelung auszeichnen. Die ganze Erscheinung erinnert lebhaft an das Hyphensystem eines parasitären Pilzes, der durch die Epidermis in das innere Gewebe eingedrungen, dieses bald inter-, bald intrazellulär durchsetzt. Bevor wir uns jedoch auf eine genaue Behandlung dieser Erscheinung in chemischer, physiologischer und biologischer Beziehung einlassen können, ist es notwendig, an der Hand der bezüglichen Literatur den Bau der Mundwerkzeuge der Pflanzenläuse kennen zu lernen; fallweise wird es auch wichtig sein, manche zoologischerseits geäußerte Auffassung über den Saugvorgang auf ihre Berechtigung zu prüfen, oder mit den Ansichten, die sich dem Botaniker aufdrängen, in Einklang zu bringen.

Der Saugapparat der Blattläuse.

Die Mundwerkzeuge, die ausschließlich flüssige Nahrung aufzunehmen haben, repräsentieren bei allen Rhynchoten einen Schnabel (Rüssel), in dem sich die Mandibeln und Maxillen als vier grätenartige Stechborsten vor- und zurückschieben lassen. Der Schnabel, dessen Hauptbestandteil die Unter-

¹⁾ Die Nomenklatur folgt C. L. Koch, Die Pflanzenläuse, Aphiden. Nürnberg 1857, und es wurde, soweit die Tiere dort genannt sind, Soraers Handbuch der Pflanzenkrankheiten. 3. Aufl. Bd. 3. berücksichtigt.

lippe darstellt, ist eine drei- bis viergliedrige, nach der Spitze zu ziemlich verschmälerte Rinne, die von der verlängerten dreieckigen Oberlippe an der breiteren Basis bedeckt wird. Außer Mark¹⁾ und Witzlaczil²⁾ beschäftigt sich eine Reihe zoologischer Arbeiten mit dem Studium und der Erklärung des Saugapparates verschiedener Gruppen der Schnabelkerfe, wobei nicht selten entgegengesetzte Anschauungen zutage treten und einander bekämpfen. Besonders eingehend befaßt sich Geise³⁾ mit den bezüglichlichen Verhältnissen bei den Hydrocoren, bei denen er den Bau der von der Ober- und Unterlippe umschlossenen vier Borsten sehr kompliziert fand. Von den beiden kleineren, mit einem Lumen versehenen Mandibeln teilweise umfaßt, liegen in der Mitte die mit gewaltigem Lumen versehenen und an ihrer Innenfläche doppelt ausgehöhlten, miteinander verfalzten, mächtiger entwickelten Unterkiefer, die Maxillen; diese Verhältnisse sind namentlich aus seiner Fig. 8 sehr deutlich zu sehen. Über die Bedeutung der Lumina, von denen sämtliche vier Borsten durchzogen sind, äußert sich Geise p. 28 folgendermaßen: „Ich habe mich schon im Anfange meiner Untersuchungen durch Injektion mit Karmin überzeugt, daß die Lumina blind endigen und die Höhlung lediglich von der Matrix der Borste durchsetzt wird. Daß diese so lange persistiert, erklärt sich aus dem Umstande, daß die Borsten trotz ihrer Feinheit an der Häutung teilnehmen. Auch fand ich einige zellige Gebilde, welche ich als Reste der Matrix deuten zu dürfen glaubte.“

Mit der allgemeinen Auffassung über die Konstituenten der zusammengesetzten Mittelborste, namentlich über die Entstehung der beiden vollkommen getrennten Röhren aus der Aneinanderlegung je zweier Rinnen stimmen auch die Untersuchungen Wedde's⁴⁾ und Leon's⁵⁾, von hier minder wichtigen Details abgesehen, überein, von denen der erstere sein Augenmerk den Geocoren zugewandt hatte. Während Geise die Vereinfachung des Saugapparates bei Ligara, welche Form im Gegensatze zu Notonecta bloß einen Gang in der Maxille als gemeinsames Rohr für den Schlundkopf und die Spritze besitzt, aus der ungewöhnlichen Verkürzung sämtlicher Mundteile zu erklären versucht, vermutet Wedde bezüglich Cimex lectularius, bei welcher Form der Landwanzen der Speichelkanal in Wegfall gekommen ist, bzw. sich mit dem Nahrungskanal zu einem Gange vereinigt hat, daß infolge des Reichtums an vorhandener Nahrung und der sehr dünnen Epidermisschicht die Injektion eines stark alkalischen Speichelsekretes behufs gesteigerten Säftezustromes gar nicht nötig sei. Über die Bedeutung der beiden auch bei den Blattläusen nach Büsgen und meinen Beobachtungen vorhandenen Rohre des Maxillarstabes herrscht zoologischerseits mit Rücksicht darauf, daß das obere Rohr mit dem Schlundkopf in Verbindung steht, eine einheitliche Auffassung: Das eigentliche und alleinige Saugrohr bilden die Maxillen und zwar in dem oberen von ihnen umschlossenen Hohlraum, während der untere Kanal ausschließlich als Ausführungsgang des Speichelsekretes gilt. Über den Bau der Wanzen-spritze und deren morphologischen Zusammenhang mit den übrigen Organen

¹⁾ Mark, E. L., Beiträge zur Anatomie der Pflanzenläuse, insbesondere der Cocciden. Bonn 1876.

²⁾ Witzlaczil, E., Zur Anatomie der Aphiden. Wien 1882.

³⁾ Geise, O., Die Mundteile der Rhynchoten, nach Untersuchungen an einigen Wasserwanzen. Bonn 1883.

⁴⁾ Wedde, H., Beiträge zur Kenntnis des Rhynchotenrüssels. Berlin 1885.

⁵⁾ Leon, N., Beiträge zur Kenntnis der Mundteile der Hemipteren. Jena 1887.

des Saugapparates kommt Wedde zu dem hier wichtigen Schlusse, daß bei den Aphiden und Cocciden die Spritze durchaus nichts mit der Nahrungsaufnahme zu tun hat, sondern ausschließlich damit betraut ist, ebenso wie bei den Hemipteren und Cicaden, das Sekret der Speicheldrüsen mit ziemlicher Gewalt nach außen zu befördern. Meine Beobachtungen beschränken sich auf Querschnittsbilder durch die Borstenbündel von *Aphis avenae* und *Aphis grossulariae* und überzeugten mich in Übereinstimmung mit Büsgen¹⁾ von dem Vorhandensein der beiden Kanäle in den Maxillen; dieselben scheinen an der Spitze zu münden, wenigstens habe ich für den größeren diese Auffassung gewinnen können. Büsgen spricht ferner von noch nicht mehr recht erkennbaren Zeichnungen am Bündelquerschnitt von *Aphis avenae*, deren Deutung er dahingestellt sein läßt. Auch mir sind diese Bilder nicht entgangen und ich habe den Eindruck gehabt, als würde neben den beiden Kanalquerschnitten noch ein weiterer kleiner Kreis zu sehen sein, wie ähnlich auch Büsgen Taf. I, Fig. 2 abbildet. Jedenfalls scheint es wünschenswert, wenn namentlich zoologischerseits hierüber noch genauere Untersuchungen angestellt werden. Ob, wie Geise will, die bei den Geokoren blind endenden Kanäle funktionell bei den Aphiden bedeutungslos sind, möchte ich bezweifeln. Denn abgesehen davon, daß ich bei *Siphonophora ulmariae* eine Mündung gesehen zu haben glaube, fand ich bei *Aphis rumicis* an einem im Gewebe von *Evonymus* steckenden Borstenbündel, dessen drei abgebrochene Borstengräten aus der Epidermis hervorragten und auseinander klafften (Taf. I, Fig. 9) an der einen Mandibularborste ein kleines, dem Kanal anhaftendes trübes Wölkchen, das sich auch bei heftigem Drücken auf das Deckglas nicht entfernen ließ und seiner Beschaffenheit nach auch nicht gut als Matrixbestandteil gelten kann. An demselben Bilde sah ich ferner, daß die Maxillaborste von einem Doppelrosafaden durchzogen war, daß also die beiden Kanäle tatsächlich mit der Saugtätigkeit in engster Beziehung stehen, so zwar, daß der eine den Speichel injiziert, der andere die mit Speichel teilweise gemengten und daher ebenfalls färbbaren Pflanzensäfte aufnimmt. Dieses Bild erscheint mir von besonderer Wichtigkeit, weil das erstemal die beiden Kanäle gewissermaßen „in Tätigkeit“ beobachtet werden konnten.

Speicheldrüsen.

Eines der wichtigsten Organe des Tierkörpers sind die Speicheldrüsen. Besonders eingehend beschäftigte sich mit dem histologischen Bau derselben Mark (l. c.). Gegenstand seiner Untersuchungen waren hauptsächlich die Coccidengattungen: *Aspidiotus*, *Chionaspis*, *Lecanium*, *Coccus* und *Dorthesia*, ferner die Aphidengattungen: *Aphis*, *Schizoneura* und *Chermes*. Die Speicheldrüsen der Pflanzenläuse zeigen in ihrer inneren Organisation die größte Mannigfaltigkeit. Einmal sind zwei oder drei Paare dieser Organe vorhanden und außerdem liegen nicht unbedeutende Verschiedenheiten zwischen den Cocciden und Aphiden vor. Mark hat bezüglich der Sekretionstätigkeit der paarigen, schlauchförmigen, mehr oder weniger gelappten Drüsen der Cocciden gefunden, daß dieselbe nicht in gleicher Weise auf bestimmte Partien des Schlauches beschränkt ist, sondern daß bei *Chionaspis* und *Aspidiotus* die

¹⁾ Büsgen, M., l. c. p. 34 ff.

ganze Länge des Schlauches, bei *Lecanium*, *Dorthesia* und *Coccus* nur die Zellen der sphaerischen Gebilde Speichel sezernieren, während die Funktion der den Schlauch zusammensetzenden Zellen sich nur auf die Abscheidung einer chitinen Masse beschränkt. Marks Auffassung über die Lappenbildung bei den Aphiden widerlegend, pflichtet Witlaczil ihm darin bei, daß nicht alle Zellen der Speicheldrüsen bei den Aphiden sekretorische Funktion haben, sondern daß sich vielmehr zweierlei Typen unterscheiden lassen: einmal solche, welche sich um den Ausführungskanal gruppieren, einen hellen, gröber granulierten Inhalt haben, während sich nur der Kern mit dem Nukleolus färbt, und dann die eigentlichen Drüsenzellen, von einem sehr fein granulierten, ziemlich intensiv braun gefärbten Zellinhalt, wodurch sie sich scharf von den ersteren unterscheiden. Auf meinen Schnitten durch die Tiere habe ich nur einen auffallenden Unterschied in tinktorieller Beziehung vorgefunden, der mit Rücksicht auf das färberische Verhalten des Speichelsekretes im Pflanzengewebe verdient, hervorgehoben zu werden. Während Hämatoxylin nur die sich um den Ausführungsgang gruppierenden Zellen intensiv blau färbt, bleiben die eigentlichen Drüsenzellen völlig farblos, bzw. treten in ihrer eigenen braungrauen Farbe deutlich hervor und stimmen in dieser Chromophobie auffallend mit dem Verhalten des Stichkanalstoffes überein. Safranin färbt nun die Speicheldrüsen und namentlich die rückwärtigen Partien derselben so intensiv rot, daß sie an Schnitten vor allem ins Auge fallen, während Muskulatur, Darmepithel, Nervensystem und Bindegewebe viel langsamer den Farbstoff speichern. Und gerade Safranin hat sich als Färbemittel der mit Sekret erfüllten Stichkanäle im Pflanzengewebe vorzüglich bewährt. Ohne die Bedeutung dieser Tatsachen überschätzen zu wollen, glaube ich doch hiermit einen teilweisen Beweis dafür erbracht zu haben, daß das Sekret, das die Tiere beim Einstechen ins Pflanzengewebe ergießen, von den Speicheldrüsen stammt. Die große Bedeutung der Speicheldrüsen scheint mir schließlich in der bedeutenden Größe dieser Organe an den sich im Mutterleibe entwickelnden Embryonen eine weitere Illustration zu finden. Daß die Speicheldrüsen trotz ihrer relativen Kleinheit im Laufe der Saugtätigkeit dennoch sehr große Sekretmengen zu liefern vermögen, darf uns nicht wundernehmen, wenn wir bedenken, daß tierische Drüsen sehr leistungsfähig sein können (die Gonaden im allgemeinen, ferner die Spinnrüsen der Schmetterlingsraupen, der Spinnen und andere mehr).

Vordringen der Borsten unter Ausscheidung von Speichelsekret.

Von der Art und Weise der Durchbohrung der Epidermiszellen, welche Rolle sie und die in ihrem Verbands liegenden Schließzellen der Spaltöffnungen spielen, wollen wir an anderer Stelle sprechen. Hier interessiert uns vor allem das Vordringen der Borsten im Pflanzengewebe überhaupt und namentlich die Rolle des Speichels, dessen Vorhandensein uns, wie oben erwähnt, die Auffindung der Stichkanäle auch dann noch ermöglicht, wenn die betreffende Laus bereits abgewandert war. Büsgen¹⁾ orientiert sich über diese Frage in der Weise, daß er den Ober- und Unterkieferborsten eine verschiedene Rolle zuweist; die Oberkiefer haben die hauptsächliche Aufgabe, die zahlreichen Hindernisse, welche die Blattlausborsten beim Vordringen im Pflanzengewebe bis zur Erreichung der Nahrung spendenden Zellen antreffen, zu überwinden: „Da die Tiere gewöhnlich nicht aus den oberflächlichen Zellen trinken,

¹⁾ Büsgen, M., l. c. p. 37.

sondern oft sehr tief einstechen, kommt hierzu noch eine ganze Reihe anderer Zellwände, Interzellulärsubstanz und eventuell festere Bestandteile der Zellinhalte. Alle diese Widerstände werden von den Oberkieferborsten durch Zerstören und Auseinanderdrängen beseitigt. Ist so das Saugrohr glücklich an Ort und Stelle gelangt, so wird es allein in die Nährzelle eingestochen, worauf seine beiden Teile an der Spitze etwas auseinanderklaffen, um dem Nahrungsstrom einen bequemen Zutritt zu gewähren. Die Oberkieferborsten sind im Innern der angesaugten Zelle nicht zu entdecken. Sie liegen außerhalb derselben, vielleicht mit ihren Rauigkeiten, wo solche vorhanden sind, gleichsam verankert und verhindern so, daß während des Saugprozesses der ganze Apparat sich von der Stelle bewegt.“ Gleichzeitig mit dem immer weiteren Vordringen der Borsten tritt nun das so auffällige Speichelsekret auf, das die Borsten als mehr oder minder starke Hülle so ziemlich überall begleitet und namentlich in den Interzellularräumen besonders mächtig wird. Auf die Bedeutung der Speichelflüssigkeit, die ihr Büsgen und andere zusprechen, kommen wir noch an anderer Stelle zurück. Büsgens Ansichten von Zerstörungen im Pflanzengewebe stehen keineswegs allein. Witzlaczil behauptet, daß das Vermögen der Borsten, zu federn, welches sie aus ihrer Bildung in den retortenförmigen Organen übernommen haben, es den Tieren ermöglicht, eine größere Verwundung im Pflanzengewebe zu erzeugen, indem zwei von den Borsten bei ihrer Verschiebung immer mehr auseinandertreten. Nach Blath¹⁾ vermag die Blutlaus, deren Rüßel nicht ganz die Länge des Körpers hat, also kaum bis ein Millimeter tief in die weiche Oberhautschicht eindringen könnte (?), diese kurze Wunde (!) durch das Vorstoßen von vier harten, pfriemlich gestalteten Saugborsten bis auf das vier- bis fünffache zu vertiefen, und damit in die säfteführenden Schichten der Rinde und des Splints einzudringen, während List²⁾ für die mit starken Zähnen an den Stechborsten bewährte Orthezia die Ansicht vertritt, daß dieselben beim Einbohren wie eine Säge zu funktionieren hätten. Sehr richtig weist Büsgen diese Auffassung zurück mit der Begründung, daß eine Säge eher hemmend als fördernd wirken müßte. H. J. Kolbe³⁾ vermutet, daß die Tatsache, daß sich die Blattläuse mit den vier vorderen Füßen und dem Schnabel gegen die Rinde stemmen, abgesehen von dem Bestreben, mit den Hinterfüßen die Ameisen abzuwehren⁴⁾, auch mit der Schwierigkeit des Eindringens des Saugapparates in das Pflanzengewebe zusammenhängen dürfte. Ein solch rücksichtsloses rein mechanisches Vordringen der Stechborsten in das Nährgewebe habe ich jedoch bei meinen zahllosen Bildern nur äußerst selten beobachten können, und zwar meist dann, wenn die Tiere sehr groß waren und ihre Borstenbündel eine im Verhältnis zu den Dimensionen der durchbohrten Zellen bedeutende Dicke besaßen: Etliche Male sah ich ein solches Durchbohren mehrerer Zellagen bei *Aphis rumicis* auf *Evonymus*, bei *Siphonophora absinthii* auf *Artemisia absinthium* und einige Male auch bei *Siphonophora Rosae* auf Blattstielen von *Rosa*. Die bezügliche Textfigur 1 zeigt deutlich, daß durch das Eindringen des Borstenbündels die in der Zeichnung

¹⁾ Blath, Die Blutlaus, ihr Auftreten und ihre Vertilgung. Magdeburg 1899.

²⁾ Nach Büsgen zitiert.

³⁾ Kolbe, H. J., Beitrag zur Biologie der Aphiden. (Berl. Entom. Zeitschr. 1884. H. 2.)

⁴⁾ Über diese Verhältnisse vgl. vor allem: Mordwilko, A., Die Ameisen und Blattläuse in ihren gegenseitigen Beziehungen und das Zusammenleben von Lebewesen überhaupt. (Biol. Centralbl. 1907. p. 212 u. 233 ff.)

links liegende Epidermiszelle teilweise gedrückt wurde und in den darunter liegenden Zellschichten mechanische Zerstörungen Platz gegriffen haben. Der Stichverlauf nimmt auf die Lage der Zellwände keine Rücksicht. Hingewiesen sei hier auch vorläufig auf die in der Zeichnung schwarz gehaltene Bildung einer Scheide von wechselnder Dicke, welche uns den Stichkanal in seiner ursprünglichen Lage und Gestalt gewissermaßen konserviert hat. Einen analogen Fall werden wir später bei Besprechung des Spaltöffnungsapparates kennen lernen.

Wesentlich anders aber liegen die Dinge bei jenen mindestens 95 Proz. umfassenden Fällen des Einstechens, wobei sich die Tiere mehr oder minder streng bei Durchquerung des Rindengewebes an die Mittellamellen der Zellwände halten und gleichzeitig stets eine große Menge von Speichelsekret ausscheiden. In den oben erwähnten Fällen vorwiegend mechanischen Vordringens der Borsten will ich mich der Auffassung Büsgens darin anschließen, daß es vorwiegend die Oberkieferborsten sind, die diese Arbeit

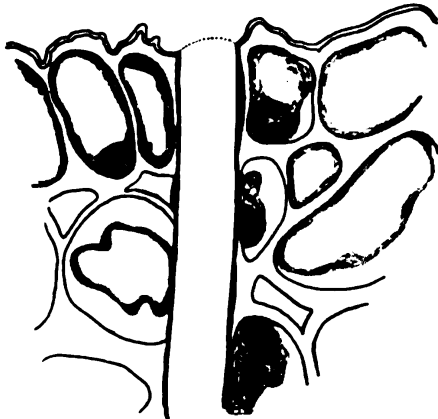


Fig. 1.

zu leisten haben. Die Frage, ob eine Verankerung des Saugapparates notwendig ist oder nicht, ja ob sie überhaupt zweckmäßig sein kann, können wir erst nach Erklärung des Saugphänomens anschneiden. Soviel sei jedoch hier schon bemerkt, daß die Auffassung vom mechanischen Vordringen des Borstenbündels im allgemeinen nicht befriedigt und daß dem Speichelsekret eine gerade hier sehr wichtige Aufgabe zukommt, die wir als Funktion seiner chemischen Beschaffenheit kennen lernen werden. Vorerst wollen wir jedoch die in der Literatur vertretenen Anschauungen über die Bedeutung des

Speichelsekretes und dessen Chemismus erörtern, um sodann das Saugphänomen und damit auch schon das Vordringen erklären zu können. Die Ausspritzung des Speichels erfolgt nach N. Leon¹⁾ in der Weise, daß, sobald das Tier seinen Schnabel (bei Pflanzenparasiten?) in die Wunde eindringen läßt, der Kolbenmuskel erschlafft, der Stiefel vorschnellt und die Flüssigkeit der Höhle durch den unteren, von den Maxillen gebildeten Kanal in die Wunde eingespritzt wird, während ein Rückströmen der Flüssigkeit durch ein Ventil an der Mündung des Speichelkanals, welches sich von innen nach außen öffnet, verhindert wird.

Die Scheide.

Im Mittelpunkt des Interesses steht nun jene Substanz, die zwar schon von älteren Forschern beobachtet, jedoch erst von Büsgen richtig als tierisches Sekret gedeutet worden war und in der Literatur unter dem Namen Scheidensubstanz Eingang gefunden hatte. Diese als Speichelsekret uns bereits bekannte Substanz verrät nach Büsgen durch seine Färbbarkeit mit Millons Reagens seine Eiweißnatur, sowie durch die sinnreichen Versuche mit abgekochten Blättern seine Provenienz vom Tiere. Es wird nach meinen Beobachtungen schon vor dem Einstechen in die Wirtspflanze häufig abge-

¹⁾ Leon, N., l. c. p. 35.

sondert und beginnt bei stark behaarten Pflanzen, wie *Artemisia absinthium*, schon bei Berührung des Haustellums mit den zu oberst liegenden Haaren zu fließen. Morstatt¹⁾ untersuchte die bezüglichen Ausscheidungen an den Borsten der roten, austernförmigen Schildlaus. Er fand, daß dieses farblose, die Saugborsten als eine dünne Röhre umhüllende Sekret sich hauptsächlich in inhaltsarmen Zellen des Korkes und Interzellularräumen der Rinde als Saugrüsselscheide vorfindet, daß es jedoch nur in der Mehrzahl der Fälle und nicht unter allen Umständen vorhanden ist. Seine Versuche, die Reaktionen, die Büsgen vorgenommen hatte, zu wiederholen, mißlingen interessanterweise, indem weder mit Millons Reagens noch mit Pikrinsäure irgendeine Farbenreaktion sich zeigte; die gründlichsten diesbezüglichen Untersuchungen stammen von Petri²⁾. In seiner Abhandlung über die Wurzelfäule an phylloxerierten Reben kommt auch der Reblausspeichel zur Sprache. Nach Petri besteht der warzige Niederschlag um die Borsten, wie sein tinktoriell und chemisches Verhalten beweist, aus Kallose, zum Teil aus unlöslichem Calciumpektat, dessen äußere Schichten sich dann mit Gerbstoff beladen. Nach der Ansicht Petris ist die Rotfärbung mit Millons Reagens auf eine Eiweißgerbstoffverbindung zurückzuführen. Die Braunfärbung alter Scheiden steht mit dieser Auffassung in vollem Einklang, sie läßt auf eine Oxydation des Gerbstoffgehaltes schließen. Auch bei anderer Gelegenheit kommt Petri³⁾ auf dieses Thema zurück: „Wie bei vielen Aphiden und Cocciden entsteht auch um das *Dactylopius*-Borstenbündel, nachdem es in das Gewebe eingedrungen ist, eine glänzende Scheide. Im Gegensatz zu Büsgen betrachte ich den Stoff, welcher den Stichkanal bildet, als aus einer Verbindung von einem Sekret des Tieres mit einer in den verletzten Zellen enthaltenen Substanz (Pektinsäure, Tannin) bestehend. Die rote Farbe, welche die Scheide bei Anwendung des Millons Reagens annimmt, schließt, obgleich sie die Anwesenheit einer Eiweißsubstanz verrät, jedoch die Möglichkeit nicht aus, daß dieser Eiweißstoff von anderen Substanzen begleitet ist. In der Tat steht der Gerbstoff, welcher in den Rindenzellen der Wurzeln und des Stockes reichlich vorhanden ist, oft in Zusammenhang mit dem Eiweißstoffe und auch diese Verbindungen nehmen mit Millons Reagens eine rote Farbe an.“ „Das Vorhandensein verwandter Insekten, von welchen einige ihr Borstenbündel bei dem Einstechen in die Gewebe durch eine besondere Scheide umgeben zeigen, während bei anderen keine Spur davon zu sehen ist, bestätigt mich in meiner Annahme von einer zweifachen, d. h. einer tierischen und einer vegetabilischen Natur der Stichkanalstoffe. Das Braunwerden der Scheiden, desgleichen jenes der Zellwände in den absterbenden Geweben, welches auf die Oxydation der Gerbstoffe oder der Phenole zurückzuführen ist, ist als eine bei der Bezeichnung dieser Scheiden nicht zu vernachlässigende Erscheinung zu betrachten.“ Diese von Petri an *Phylloxera* und *Dactylopius* vorgenommene Modifikation des Büsgenschen Erklärungsversuches kann ich für die Blattläuse im allgemeinen bestätigen. Es zeigte sich, daß überall dort, wo die Borsten und mit ihnen das Speichel-

¹⁾ Morstatt, H., Untersuchungen an der roten austernförmigen Schildlaus *Diaspis fallax* nov. nom. Horwath. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 21.)

²⁾ Petri, L., Über die Wurzelfäule phylloxerierter Weinstöcke. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1909.)

³⁾ Petri, L., Bemerkungen über die Rolle der Milben bei der *Dactylopius*-krankheit der Rebe. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 21. p. 377.)

sekret Zellen durchquerten, das letztere infolge einer Reaktion mit dem Zellsaft eine chemische Veränderung erfuhr, was in seinem tinktoriellen Verhalten zum Ausdruck kam. Während die Stichkanalstoffe bei ihrem interzellularen Verlaufe eine intensiv rote Farbe aufwiesen, wurden sie unmittelbar bei ihrem Eintritt in eine Zelle schwach rosa und waren von einem noch helleren Kanal durchzogen, wie aus Textfigur 5, an einer wiederholt durchstochenen Zelle zu sehen ist. In anderen Fällen wieder, namentlich dort, wo große Sekretmassen sich in das Innere einer Zelle ergossen, kommt es zu einer förmlichen Durchdringung zwischen Speichelsekret und Zellsaft, während sich der Protoplast und seine Inhaltskörper von außen anlegen, so daß es oft schwer hält, eine scharfe Grenze zwischen tierischen und pflanzlichen Bestandteilen zu ziehen. Dazu kommt eine noch später zu besprechende Anreicherung von Gerbstoffen in den getroffenen Zellen und deren Wänden, so daß die Safraninfärbung solche Partien in dunkelroter Farbe hervortreten läßt. Von

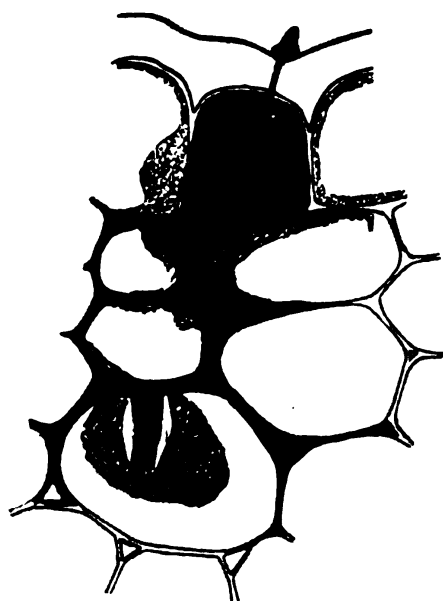


Fig. 2.

Rinde von *Ribes rubrum* verfolgen, wo diese von den Stechborsten durchbohrt werden. Es umgibt sich das Speichelsekret, das an und für sich schon lebhaft rot gefärbt ist, mit einer noch dunkleren Kontur von der Intensität der Gerbstoffvakuolen der besagten Zellen, eine Erscheinung, die sich in gerbstoffarmen oder -freien Parenchymzellen der Rinde niemals beobachten ließ.

Es steht also tatsächlich eine enge Beziehung zwischen Speichel und Gerbstoff fest, mit welcher letzterem sich der erstere in seinen äußeren Partien reich beladet, welche Tatsache der Auffassung Petris auch für die Blattläuse Geltung verschafft. Weiter möchte ich auf die Möglichkeit hinweisen, daß die lebhaft Färbbarkeit des Speichels mit Methylenblau, welches den Gerbstoff als gerbsaures Methylenblau ausfällt¹⁾, eben durch den Gerbstoffgehalt der Stichkanalstoffe bedingt ist. Daß die Stichkanäle an von den Läusen längst verlassenem Gewebe allmählich ihre Färbbarkeit mit Safranin verlieren, sei beiläufig erwähnt.

¹⁾ Molisch, H., Mikrochemie der Pflanzen. Jena 1913. p. 157.

diesen wenig differenzierten einheitlich rot gefärbten Zellen strahlen nicht selten rote Äste und Adern in das benachbarte Gewebe aus, weil reiche Gerbstoffablagerungen in den Zellwänden sich zu den interzellularen Stichkanälen gesellen. Mit dem Absterben solcher Zellkomplexe ändern auch die Protoplasten, die gleichfalls mit Tannin bereichert werden, ihr tinktoriell Verhalten. Die nebenstehende Textfigur 2 zeigt einen solchen Fall. Die mit Safranin im Präparate rot gefärbten Partien sind in der Zeichnung grau gehalten. Charakteristisch ist, daß sich der Stichkanal über die Hypodermis hinaus nicht mehr mit Sicherheit verfolgen läßt.

Daß aber der Gerbstoff mit dem Speichel in direkte Beziehungen tritt, kann man am deutlichsten an mit Gerbstoff reichlich beladenen Zellen aus der

In Erörterung der Frage, auf welchem Wege die Scheidensubstanz in die Wunde gelangt, diskutiert Büsgen die physikalische Beschaffenheit des Blattlaussekretes und findet, daß dasselbe gleich nach seiner Ausscheidung erstarrt, „woraus wohl hervorgeht, daß das Saugrohr zu seinem Transport in die Wunde nicht benutzt werden kann.“ Bei Untersuchungen, die ich an mit Blattläusen besetzten Exemplaren der Pferdebohne anstellte, hat sich beim Schneiden mit dem Rasirmesser auch zufällig ergeben, daß die ganze Sekretmasse, die eben von einem Tier ausgeschieden worden war, aus dem Zusammenhange mit dem Gewebe herausgerissen worden war und nun auf dem Objekte zu liegen kam. Und da zeigte sich nun, daß das Sekret eine zähflüssige, fadenziehende Konsistenz hat und in klumpigen Massen dem Objekt anhaftete, während die einzelnen Portionen durch feine, brückendarstellende Fäden, wie solche nie als Scheiden gedeutet werden könnten, miteinander verbunden waren. Diese Beobachtung widerspricht der allgemeinen Auffassung, daß das Sekret gleich nach seiner Ausscheidung erstarrt. Wir werden übrigens am Schlusse dieses Kapitels auf den Begriff starrer Scheiden zurückkommen.

Über den Weg, den das Speichelsekret nimmt, sagt Büsgen, daß zwei Möglichkeiten bestehen, entweder tritt das Sekret zwischen den Mandibularborsten und dem Saugrohre hervor oder aber es kommt bloß an der Spitze der Maxillen zum Vorschein. Gegen diese zweite Möglichkeit scheint Büsgen jedoch die Schwierigkeit zu sprechen, das Zustandekommen starrer Scheiden im Innern größerer Hohlräume, seien es Zellumina- oder Interzellulargänge bei ausschließlichem Ausströmen an der Spitze zu erklären. Büsgen hält also an der Möglichkeit fest, daß Sekret auch zwischen den Borsten austrete, da die zweite Methode nicht so große Sekretmengen liefern könne. Wenn wir jedoch die oben zitierte Funktion des Speichelausspritzapparates, wie sie Leon festgestellt hat, berücksichtigen, ferner in Erwägung ziehen, daß vom Standpunkte des Baues der Mundwerkzeuge ein Austreten von Sekret zwischen den Borsten kaum denkbar ist, dürfen wir wohl an die Fähigkeit des Tieres glauben, in kurzer Zeit große Sekretmassen zu liefern. Es scheint mir überdies unverständlich, wieso die Tiere, namentlich wenn der Stichverlauf interzellular in einem interzellularenarmen Gewebe erfolgt, lokal große Sekretmengen liefern könnten, wo doch eine Regulierung und Präzision in der Speichelentleerung ohne Benutzung eines vollständig geschlossenen Röhrensystems nicht erwartet werden kann. Nach meinen Beobachtungen, wie die Figur 9 zeigt, beginnt die Sekretabsonderung meistens schon vor dem Einstich in die Epidermiszellen; dieses Speichelsekret fließt nun — an dieser einzig plausiblen Erklärung möchte ich unbedingt festhalten — dem tiefer dringenden Borstenbündel stets voraus, so daß das letztere gewissermaßen immer schon in Sekret eintaucht und sich so nachträglich mit einer erst später teilweise hart werdenden Scheide umgibt. Diese Art der Sekretausscheidung: das Vorausfließen desselben und das Nachdringen des Borstenbündels bringt es naturgemäß mit sich, daß in Interzellulargängen sich größere Mengen des mit einer gewissen Gewalt injizierten Sekretes ansammeln können, während überall dort, wo das Borstenbündel lediglich die Mittellamelle und die Zellen auseinanderdrängt, das bereits vorhandene Sekret auf ein Minimum, auf eine äußerst dünne, oft nur mit scharfen Linsensystemen mehr nachweisbare zarte Borstenhülle reduziert wird. Diese Auffassung vom Vorausfließen des Sekretes, die auch vom tierphysiologischen Standpunkt

— es ist ja doch ein Speichel — meines Erachtens die richtige ist, tut der Erklärung des Saugphänomens selbst gar keinen Abbruch, ja sie ist vielmehr notwendig, wenn wir die zahlreichen anatomischen Bilder, die sich mir im Laufe meiner fast zweijährigen Untersuchungen ergaben, richtig deuten und verstehen wollen.

Wenden wir uns nun der biologischen Bedeutung dieser Scheidensubstanz zu. Die von Büsgen begründete Auffassung über die Funktion starrer Scheiden, die auch von Petri¹⁾ übernommen wurde, besteht in Folgendem²⁾: „Fast überall bildet die Scheidensubstanz ein allseits geschlossenes Rohr, welches dem Borstenbündel dicht anliegt und nur da Unterbrechungen zeigt, wo es durch Zellulose ersetzt ist, d. h. an den Stellen des Bündels, welche im Innern von Zellwänden verlaufen. Das Rohr wirkt im Innern der Pflanze ähnlich wie das Rostrum auf ihrer Außenfläche.“ Weiter argumentiert Büsgen, daß ähnlich wie ein starkes Haar, das auf Paraffin aufgesetzt, nicht eindringen könnte und sich krümmen müßte, wenn es sich nicht in sicherer Führung befände, sich auch die Borsten an der Außenseite der Pflanze wie im Innern krümmen müßten. „Derartige Krümmungen aber verhindert eben das Rohr, dessen Wände im Verhältnis zum Borstenbündel recht dick sein können und an den bezeichneten Stellen noch besondere Verstärkungen zu haben pflegen. Es sorgt dafür, daß der Druck in möglichster Stärke sich bis zu den Borstenspitzen fortpflanzt und liefert somit eine der wesentlichsten Bedingungen für ein kräftiges Vordringen derselben. Daß ohne die Scheidensubstanz die Borsten, wo Platz dazu ist, wirklich auseinanderklaffen, zeigt jeder Schnitt, der ein Stück eines Borstenbündels aus seiner Scheide zerrt. Durch einen solchen kann man mitten in einem Gewebe das Borstenbündel dreigeteilt sehen, wie es sich sonst nur auf der Oberfläche der Pflanze findet.“ Treten wir nun dieser Anschauung über die Scheidensubstanz näher. Büsgen erblickt also in der Scheidenbildung die ausschließliche Aufgabe des Speichelsekretes und erklärt die großen Sekretmassen in den Interzellulargängen lediglich im Sinne einer mechanischen Verstärkung dieser Scheiden. Zunächst abgesehen von den unten zu bringenden Differenzierungen, die der Ansicht Büsgens über faktische Scheidenbildung entgegenkommen, und abgesehen von der zähflüssigen Konsistenz des Speichels, dessen Erhärtung erst einen späteren Prozeß bildet, drängen sich zwei Fragen in den Vordergrund: 1. Welchen Zweck haben die Speicheldrüsen und von ihnen produzierte Sekrete? und 2. Ist eine Scheidenbildung unter allen Umständen absolut notwendig?

Zur ersten Frage: Soll die Bildung starrer Scheiden tatsächlich der Zweck sein, dem die Tiere so große Speichelmengen opfern? Ist das die ursprüngliche Bedeutung von Sekreten, die den Speicheldrüsen entstammen? Ist es ferner notwendig, daß zuweilen ganze Zellen mit Speichel aufgefüllt werden, um eine borstenumkleidende Scheide zu bilden? Und warum sollen in den Interzellularräumen die bezüglichen Verhältnisse ungünstiger sein, als in den turgorschwachen bis plasmolysierten Zellen, so daß die Tiere gezwungen werden, lediglich zur Scheidenbildung so große

¹⁾ Petri, L., (Über die Wurzelfäule . . .): „Das allgemeine Vorkommen solcher starrer Scheiden in bereits vor langer Zeit angesaugten Wurzeln beweist zur Genüge, daß . . .“

²⁾ Büsgen, M., l. c. p. 47.

Sekretmassen abzusondern, wie aus den Figuren 4 und 21 ersichtlich ist? Wir werden im nächsten Kapitel noch eingehend auf diese Fragen zurückkommen und die physiologische Rolle des Speichels zu erörtern haben, aus deren Verständnis sich nicht nur der Zweck des Speichelsekretes, sondern auch das Wesen des Saugphänomens klar ergeben wird.

Und nun zur zweiten Frage: Büsgen hat erklärt, daß das Borstenbündel überall dort, wo ihm dazu Gelegenheit gegeben ist, auseinanderklafft, so daß ein Vordringen ohne feste Führung unmöglich ist. Auch ich habe dieses Auseinanderklaffen der Borsten wiederholt sowohl innerhalb als auch außerhalb der Gewebe gesehen. Jedoch will ich hier eine an *Aphis grossulariae* auf *Ribes rubrum* gemachte Beobachtung nicht verschweigen. Bei vielen Tieren, die mit Alkohol getötet und unter Glycerin beobachtet wurden und deren Borstenbündel durchwegs weit aus dem Rostrum hervorragte, sah ich dieselben entgegen den gewohnten Bildern nicht aufgerollt, sondern es bildeten alle Konstituenten einen einheitlichen aus der Proboscis hervorragenden Stift. Bei anderen im gleichen Medium liegenden Tieren waren die einzelnen Borsten teilweise wieder aufgerollt. Diese Beobachtung scheint mir von großer Wichtigkeit, denn sie zeigt, daß die Aufrollung der freiliegenden Borsten keine Naturnotwendigkeit ist und daß dieselben auch, ohne von einem festen Rohr umgeben zu sein, imstande sind, beisammen zu bleiben. Vielleicht ist die Zurückrollung der Borsten, eine Erscheinung, die mit deren Entstehung aus retortenförmigen Organen in Zusammenhang gebracht wird, lediglich eine Folge der Einwirkung der verschiedenen Reagentien, in denen die Beobachtungen vorgenommen werden, und es ist leicht möglich, daß solche Momente bereits auf das physikalische Verhalten so zarter Organe einen Einfluß ausüben können. Und noch etwas: Wenn die Tendenz vorliegt, sich aufzurollen und namentlich von den Spitzen her auseinanderzuweichen, dann wäre unter allen Umständen auch bei interzellularem Verlaufe zwischen den beiden Lamellen einer Zellwand eine sofort gebildete feste Röhre notwendig, da die Elastizität der Zellwand nicht verhindern könnte, daß an ihr seitliche Einbuchtungen und damit Hemmungen in der Vorwärtsbewegung eintreten. Und wenn schließlich wirklich die sofortige Bildung starrer Scheiden für das Eindringen der Borsten eine *Conditio sine qua non* wäre, dann frage ich: Wieso können andere Läuse, welche keine Borstenscheide bilden, dennoch im Pflanzengewebe vordringen? Wie ist es zu verstehen, daß, wie Morstatt erwähnte und worauf auch Petri hinwies, bei manchen Läusen, so bei der roten, austernförmigen Schildlaus, nur in der Mehrzahl der Fälle und nicht in allen um die Borsten Scheiden gebildet werden und dennoch alle diese Tiere dem Sauggeschäft obliegen können, wo doch die starre Borstenscheide den Schlüssel ins Pflanzengewebe darstellen soll!?

Und nun möchte ich eine weitere Differenzierung vornehmen. Als Scheide bezeichnen die Autoren ohne Unterschied auf irgendwelche Details die Sekretmassen, die sich im Pflanzengewebe außerhalb des Borstenbündels vorfinden, mögen dieselben nun auf wenige Tropfen beschränkt sein, als feine Borstenhülle ausgebildet oder große Sekretklumpen der Interzellularräume entwickelt sein. Wenn wir zahlreiche Bilder vergleichen, so drängen sich Verschiedenheiten auf, die nicht unerwähnt bleiben dürfen. Da gibt es Fälle, daß namentlich dort, wo das Borstenbündel schon tief ins Gewebe vorgedrungen ist, der

Stichkanalstoff als homogene, mit Safranin rot gefärbte, meist sehr feine, hyphenähnliche Äste bildende Substanz auftritt und einzelne Zellen oft förmlich umgreift. Von irgendeiner Differenzierung im Innern ist hier nichts zu sehen; die Kanäle sind größtenteils so dünn, daß man auf den ersten Blick sieht, von einer Scheidenbildung, deren Durchmesser annähernd dem des Borstenbündels entsprechen müßte, ist hier keine Rede. Bezügliche Bilder zeigen die Figuren 4 und 8 in den zwischen den beiden Lamellen von Zellwänden verlaufenden Teilen des Stichkanals. In diesen Fällen ist vielmehr das Speichelsekret in dem vom Borstenbündel besuchten und durch dasselbe unter Mitwirkung des Sekretes geschaffenen Interzellularraum infolge des, wie wir beim Saugphänomen noch sehen werden, verminderten Turgors der Nachbarzellen zurückgeblieben. In anderen Fällen aber bleibt auch nach Verlassen der Saugstelle durch die Blattlaus das Lumen, das die Borsten eingenommen hatten, erhalten, mag es nun mit Speichelsekret angefüllt worden sein oder nicht. Es findet sich in diesen Röhren stets eine zarte Hülle vom Umfange des Borstenbündels, welcher von außen her in den einzelnen durchquerten Interzellulargängen sich kleinere oder größere Sekretröpfchen anlagern. Hier ist also tatsächlich eine starre Scheide entstanden, von der wir allerdings noch nicht wissen, welche Momente für ihre Bildung maßgebend sind. Diese Scheide im engeren Sinne hat biologisch und physiologisch mit dem Speichel, von dem sie gewissermaßen die innerste an der Berührungszone mit den Borsten entstandene Schicht repräsentiert, nichts mehr zu tun. Sie ist also jene dünne Sekrethülle, die beim Tiefer tauchen der Borsten diese umzieht, ist aus noch nicht näher bekannten Gründen schließlich hart geworden und übernimmt so nachträglich, nie aber primär die Rolle einer Röhre, in deren Führung die Borstenbündel bei wiederholten Vorstechen in das Nährgewebe eine gewisse Bewegungssicherheit erzielen, ohne daß die Rindenpartien zu sehr beschädigt würden. Daß die Scheidenbildung erst nachträglich erfolgt, daß alle die Speichelsekretröpfchen früher eine ganz andere, viel wichtigere Aufgabe zu erfüllen haben, die nur verständlich und möglich ist, wenn keine a priori feste Scheide sich um das Ende des Borstenbündels legt, wird sich noch aus dem Studium des Saugphänomens ergeben. Figur 3 und 17 zeigen leere, Figur 18 eine sekreterfüllte Scheide, Figur 3 speziell noch die Scheidenbildung in einem tieferliegenden Gewebe, dem Leptom eines Gefäßbündels. Über die Verteilung dieser Scheiden im engeren Sinne läßt sich im allgemeinen sagen, daß die Hauptstichkanäle und ihre peripher liegenden hauptsächlichsten Verzweigungen fast immer damit ausgestattet sind, während sie den feineren Verzweigungen und letzten Ausläufern des „Blattlaushyphensystems“ zwar keineswegs immer, aber doch in der Mehrzahl der Fälle fehlen.

Chemismus des Sekretes.

Obwohl speziell über Aphiden und Cocciden direkte chemische Untersuchungen über die Eigenschaften des Speichelsekretes fehlen, halte ich es doch für notwendig, die reichhaltige Literatur, die in dieser Hinsicht bereits über andere Rhynchoten besteht, aufzuführen, weil wir einerseits wohl annehmen dürfen, daß mit Rücksicht darauf, daß bei allen untersuchten verschiedenen Gruppen angehörenden Schnabelkerfen die Verhältnisse nahezu

gleich liegen, auch die Blattläuse mit diesen an jenen gefundenen Tatsachen im wesentlichen übereinstimmen werden und andererseits, wie wir im nächsten Kapitel aus den anatomischen Bildern sehen werden, deren genaues Studium geradezu dazu zwingt, den Chemismus des Aphidenspeichels mit dem der übrigen Rhynchoten zu identifizieren. Bemühungen, die Eigenschaften des Rhynchotenspeichels zu ermitteln, sind schon ziemlich alt. Schon *Burmeister*¹⁾ spricht dem Speichel die Rolle einer Art von Gift zu, welches die Nahrungsmittel gleichsam tötet, sie ihrer natürlichen lebenden Kraft beraubt und dadurch gleichsam in einen gebrühten Zustand versetzt. „Auch überzeugt uns der Stich blutsaugender Kerfe teils durch den Schmerz der Wunde von der ätzenden, teils durch die bald hernach entstehende Entzündung um die Wunde von der verändernden Kraft des Speichels auf das bestimmteste.“ Botaniker, Chemiker und vor allem Zoologen haben sich mit den bezüglichen Eigenschaften und namentlich der Wirkung der Stiche blutsaugender Insekten beschäftigt. So sagt *Geise*²⁾ bezüglich der Hydrokoren, daß dem Speichelsekrete eine stark alkalische, ätzende Kraft innewohnt, vermöge deren ein gesteigerter Säftezufluß nach der angestochenen Stelle hin erfolgt. „Dies liegt natürlich sehr im Interesse des Tieres, welches jetzt leichter und schneller sein Nahrungsbedürfnis befriedigen kann.“ *Geise* betont, daß durch die ätzende Kraft des tief in die Wunde gepreßten Speichels eine Wirkung erzielt wird, die bloß durch eine mechanische Verletzung des Gewebes nie erreicht werden könnte. Einen direkten Beweis für die Alkalität der Drüsenflüssigkeit bringt *Wedde*³⁾. Es gelang ihm, Wanzen, und zwar Geokoren, so lange zu reizen, bis an der Schnabelspitze ein winziges Tröpfchen eines wasserklaren Liquidums zum Vorschein kam, das gerötetes Lackmuspapier bläute. Bezüglich der Aphiden, vermutet *Wedde*, daß das Speichelsekret ebenso die Aufgabe habe, in der Wunde einen erhöhten Säftezufluß zu erzeugen. Auch die Ansichten *Leons*⁴⁾ stimmen mit diesen Angaben überein, vor allem hält er dafür, daß es gleichgültig sei, um welche Nahrung, ob Pflanzensäfte oder Blut, es sich dabei handle. In seiner Arbeit über die Blattlauskrankheit spricht sich *Busse*⁵⁾ dahin aus, daß die von *Gruener*⁶⁾ und anderen als Ursache für erhöhten Säftezufluß herangezogene alkalische Eigenschaft des Speichelsekretes dem Botaniker zwar nicht verständlich sei, daß aber immerhin die alkalische Reaktion für die Wirksamkeit des Fermentes, auf dessen Bedeutung wir im folgenden zurückkommen, von großem Werte sei. Einen solchen Säftezufluß als Ursache für die Anschwellungen an blutlausbefallenen Pflanzen erwähnt auch *Blath*⁷⁾, ohne allerdings, wie es scheint, selbst bezügliche Untersuchungen angestellt zu haben. Von größter Wichtigkeit ist nun aber eine andere Funktion des Speichelsekretes, für welche zuerst *Plateau*⁸⁾ auf Grund eingehender Versuche eine ausführliche Darstellung gibt: „J'ai broyé l'ensemble des quatre glandes de deux Nèpes avec un peu d'empois d'amidon, et j'ai abandonné le mélange

¹⁾ *Burmeister*, Handbuch der Entomologie. Bd. 1. Berlin 1832. p. 388.

²⁾ *Geise*, O., l. c. p. 40.

³⁾ *Wedde*, H., l. c.

⁴⁾ *Leon*, N., l. c.

⁵⁾ *Busse*, W., Untersuchungen über die Krankheiten der Sorghumhirse. (Arb. a. d. Biol. Abt. f. Land- u. Forstw. Berlin 1904.)

⁶⁾ *Gruener*, M., Biologische Untersuchungen an Schaumzikaden. Berlin 1901.

⁷⁾ *Blath*, l. c.

⁸⁾ *Plateau*, F., Recherches sur les phénomènes de la digestion chez les Insectes. Bruxelles 1874.

à lui même pendant trente minutes. Au bout de ce temps, il était facile de déceler la présence de sucre dans le mélange. La salive de ces insectes a donc, comme la salive mixte des mammifères, le pouvoir de transformer les matières féculentes en glucose.“ Weiter fand Plateau eine Verschiedenheit zwischen den vorderen und hinteren Drüsenlappen: „Les glandes postérieures ont donc, très probablement, chez les Hémiptères examinés, une autre fonction que celle des glandes en grappes antérieures, et les résultats . . . prouvent . . . que les glandes en tubes ne sont pas les simples réservoirs du liquide produit par les autres; car, dans ce cas, leur action sur l'amidon eut dû être identique à celle des glandes en grappes.“

Diese für Nepa gegebenen wichtigen Beweise der stärkever-zuckernden Fähigkeit des Speichelsekretes hat nun Gruner für die Aphrophora salicis-Larven weiter ausgebaut. Die von 20 Larven herauspräparierten Speicheldrüsen wurden mit destilliertem Wasser zerrieben, und dem Gemisch ein Tropfen Stärkekleister zugesetzt. In diesem Zustande verblieben nun dieselben durch 24 Stunden bei einer Temperatur von 40° im Thermostaten. Nach Ablauf dieser Zeit hat sich eine bedeutende Verminderung des Stärkegehaltes unter gleichzeitiger Bildung von Zucker (Maltose) als Resultat einer unmittelbaren Einwirkung eines in den Speicheldrüsen vorhandenen Ptyalins oder analogen Enzyms nachweisen lassen. Das Resultat dieser Untersuchungen ist mithin der exakte Nachweis, „daß die Speicheldrüsen außer ihrer schon bekannten Funktion ein alkalisches, reizausübendes und dadurch Säftezufluß erzeugendes Sekret zu produzieren, noch die Aufgabe zu erfüllen haben — analog den Verhältnissen bei den Wirbeltieren —, mittels ihrer Absonderungen Stärke in lösliche Form, nämlich Zucker überzuführen.“ Auch Büsgen kommt in seiner wiederholt zitierten Arbeit auf die Frage zurück, ob nicht vielleicht gleichzeitig mit dem Saugen eine Art Gift sich in die Wunde ergieße, was er speziell für seinen Stichtypus II (die Nahrungsquellen sind die Parenchymzellen der Rinde) für wahrscheinlich hält. Er meint, es könnte als eine Art Speichel sezerniert werden, welcher sich an der Mündung des Saugrohres mit der Nahrung mischen würde. Der natürliche Weg für ein solches Sekret wurde bei seiner Theorie von der Bildung starrer Scheiden allerdings schon von der glänzenden Scheidensubstanz in Anspruch genommen, doch „k ö n n t e j a d i e s e s e l b s t e n z y m a t i s c h e E i g e n s c h a f t e n b e s i t z e n.“ „Ein derartiger Stoff müßte auch den Pflanzenläusen von großem Vorteil sein.“ „Die Lösung der Stoffe in einer Zelle unter fortwährender langsamer Absaugung des entstehenden Zuckers würde einen o s m o t i s c h e n Z u s t r o m n a c h d e r a n g e s t o c h e n e n Z e l l e ¹⁾ hin veranlassen, welcher den Tieren immer neue Nahrung zuführte.“ Busse nimmt auf diese Anschauungen Bezug und benutzt die Untersuchungsergebnisse Gruners zur Stützung der Vermutungen Büsgens, da er davon überzeugt ist, daß die an den Zikaden gemachten Beobachtungen auch für die Aphiden Geltung haben werden. Nach seiner Ansicht, die ich für richtig halte, und deren Erklärung später noch aus den anatomischen Bildern erfolgen wird, erfolgt die Lösung der Stärke in Zucker bereits im Gewebe selbst, während ältere Forscher namentlich auf zoologischer Seite²⁾ (wir kommen im nächsten Kapitel noch darauf zurück), die Anschauung vertreten, daß kleine Stärkekörnchen das Maxillarrohr passieren und erst im Schlunde

¹⁾ Sperrdruck von mir.

²⁾ Leon, l. c.

von Chitinzähnen zermahlen werden, eine Auffassung, die, abgesehen von ihrer Unwahrscheinlichkeit aus mechanischen Rücksichten (wie leicht könnte es zu einer dauernden Verstopfung des Saugrohres kommen), schon deshalb zurückgewiesen werden muß, weil, wie wir unten zeigen werden, das Saugen größtenteils bei interzellularem Stichverlauf erfolgt, wobei doch nur völlig gelöste und flüssige Substanzen durch die Zellwände hindurchströmen können. Eine Giftwirkung hält Busse bei Absonderung eines Stärke lösenden Enzyms nicht gut für möglich, wohl aber komme eine solche bei den Gallen erzeugenden Aphiden in Betracht. Über diese Frage sagt Börner¹⁾: „Wahrscheinlich reizt das mit den Stechborsten in das Pflanzengewebe eingedrungene Speichelsekret der Läuse die Zellen der Pflanzen zu gesteigertem Wachstum und zur Gallenbildung.“ Zur Untersuchung der Frage, von welchem Augenblicke der Veränderungen an man von Gallen sprechen könne²⁾, will ich hier vorbehaltlich späterer Mitteilungen noch nicht Stellung nehmen, wir werden aber im Kapitel „Reaktionen der Zellen“ sehen, daß es, ohne daß die Zellen ihre Gestalt ändern und ohne daß äußerlich auch nur das mindeste wahrnehmbar wäre, doch bereits zu weitgehenden pathologischen Veränderungen kommt, die nur verständlich sein können, wenn wir an der von vielen Seiten bereits vermuteten Giftwirkung festhalten. Soviel wir also bisher gesehen haben, kommt dem Speichelsekret, das von Büsgen unter anderem ausschließlich zur Bildung mechanisch wirkender Borstenseiden in Anspruch genommen worden war, zweifellos eine ganz andere, viel wichtigere Hauptaufgabe zu, der es durch seine beiden Eigenschaften, alkalische Reaktion und Stärkeverzuckerung gerecht zu werden vermag.

Auf noch eine für die Bedeutung der Blattläuse als Kulturschädlinge wichtige Verschiedenheit derselben gegenüber den von Gruner untersuchten Schaumzikaden sei hier verwiesen. Haben schon Büsgen und Brandes³⁾, ersterer auf experimentellem Wege, unter den älteren Autoren besonders Nördlinger⁴⁾ auf die Menge honigartiger Flüssigkeit, die von den Blattläusen durch den After abgesondert wird, hingewiesen, so beleuchtet ein anatomischer Mangel der Blattläuse ihre Bedeutung als Kulturschädlinge ganz besonders: Sie besitzen keine malpighischen Gefäße. Während die Schaumzikaden, mit Exkretionsorganen ausgestattet, imstande sind, die Nahrung (Pflanzensäfte) sehr gut auszunutzen, so daß sich im Aftersekrete (dem Schaume)⁵⁾ kein Zucker befindet, liegt nach Brandes bei den Aphiden mangels an Nephridialorganen eine viel schlechtere Ausnutzung der Nahrung vor. Da die Schaumzikaden befähigt sind, eine viel vollkommenere Herausbeförderung der Abfallsprodukte zu besorgen, liegt bei ihnen eine weit rationellere Ausnutzung der Pflanzenstoffe, speziell der Kohlehydrate, vor, als bei den Blattläusen. Demgemäß vermag die Verdauung der letzteren den aufgenommenen Rohrzucker, der durch die Tätigkeit der Magensäfte in Invertzucker und Dextrin umgewandelt wird, nicht völlig zu verarbeiten, so

¹⁾ Börner in Sorauer, Handbuch der Pflanzenkrankh. 3. Aufl. Bd. 3. 1913. p. 655.

²⁾ Definition über das Wesen einer Galle bei: Küster, E., Pathologische Pflanzenanatomie. Jena 1903. p. 190.

³⁾ Brandes, Die Blattläuse und der Honigtau. (Zeitschr. f. Naturw. Halle. Bd. 66. 1893. p. 98.)

⁴⁾ Nördlinger, Über den Waldhonigtau. (Allgem. Forst- u. Jagdzeitg. Bd. 20. 1854. p. 365.)

—, Waldhonigtau. (Kritisch. Bl. f. Forst- u. Jagdw. Bd. 46. 1864. p. 128 ff.)

⁵⁾ Vgl. auch Sulc, K., Über Respiration, Tracheensystem und Schaumproduktion der Schaumzikadenlarven. (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 99. 1911. H. 1.)

daß im Aftersekret die letztgenannten Produkte teilweise wieder zum Vorschein kommen. Diese unvollkommene Verdauungsarbeit, die sich nach einer von Brandes zitierten Mitteilung Büsgens an Dr. Smalian auch gelegentlich bei höheren Tieren vorfindet und immer dann zum Vorschein kommt, wenn in der Nahrung ein Übermaß von Kohlehydraten gegenüber dem Eiweiß vorliegt, hat eine größere Nahrungsaufnahme als normal zur Folge, nicht nur die Blattläuse leben von den Pflanzensäften, sondern indirekt auch die Ameisen und die Pilze der Honigtauf flora.

Das Saugphänomen.

Nachdem wir nun die Mundwerkzeuge und ihre Anhangsorgane, sowie das chemische Verhalten des Speichelsekretes kennen gelernt haben, wollen wir uns der Frage zuwenden: Wie erfolgt die Nahrungsaufnahme bei den Pflanzenläusen? Diese Frage wird hier gewiß nicht das erstemal aufgeworfen. Zoologen und Botaniker haben sich schon lange und oft bemüht, die Antwort darauf zu finden und die Auffassungen stehen der richtigen Lösung bald näher, bald ferner. Während jedoch die Zoologen in erster Linie oder fast ausschließlich aus Schnittserien durch den Cephalothorax, aus dem Verlaufe bestimmter Muskelzüge und deren Anheftung an diese oder jene Chitinplatte bzw. -stäbchen usw. das Funktionieren des Saugapparates zu erklären versuchten, ohne dabei der Veränderung im Pflanzengewebe zu gedenken, haben die wenigen Botaniker, die sich an diese Frage heranwagten, in erster Linie die Bilder, die an- oder ausgesaugte Zellen zeigten, zur Grundlage ihrer Erklärungsversuche gemacht. Wir wollen hier zunächst die Botaniker zu Worte kommen lassen und erst am Schlusse die Auffassungen der Zoologen, soweit sie unrichtig oder einseitig sind, kritisieren. Grundlegend für die Erklärungsversuche sind unstreitig die Ansichten Büsgens geworden, der aus seinen Schnitten folgende Tatsachen herausgelesen hatte: „Ist so das Saugrohr glücklich an Ort und Stelle gelangt, so wird es allein in die Nährzelle eingestochen, worauf seine beiden Teile an der Spitze etwas auseinanderklaffen, um dem Nahrungsstrom einen bequemeren Eintritt zu gewähren¹⁾.“ „Die p. 46 beschriebene Gestalt der Kanäle . . . bedeutet, daß die Borsten erst in irgendeiner Richtung bis in die letztgenannten Gewebe einstechen und dann eine kurze Strecke weit zurückgezogen werden, um in wechselnder Richtung immer wieder in dieselben einzudringen²⁾.“ Weiter diskutiert Büsgen Verzweigungen der Stichkanäle außerhalb des Nährgewebes und erklärt sie für Probestiche, die die Tiere machen müßten, bis sie in das Nährgewebe eingedrungen sein mochten. Über die Nahrungsaufnahme sagt er weiter: „Die Spitze des Saugorgans besucht auf diese Weise immer neue Kambium- resp. Weichbastzellen, und wir müssen annehmen, daß dies geschieht, um bald hier, bald dort Tribut zu erheben.“³⁾

Über die Nahrungsaufnahme aus den Parenchymzellen: „... denn das Borstenbündel befindet sich in jeder Parenchymzelle an der Nahrungsquelle. Hier findet der früher erwähnte zweite Ernährungsmodus statt. Das Saugrohr erschöpft Zelle auf Zelle und dringt dabei von einer Parenchymzelle zur anderen vor.“³⁾ Büsgen steht also auf dem Standpunkte, daß das Aussaugen stets in der Weise erfolgt, daß eine bestimmte Zelle, die das jeweilige Ziel des Borstenbündels ist, vom Tiere auf me-

¹⁾ Büsgen, l. c. p. 37.

²⁾ Büsgen, l. c. p. 49.

³⁾ Büsgen, l. c. p. 57.

chanischem Wege ausgesogen wird. Ist dieselbe erschöpft, dann muß das Borstenbündel zurückgezogen und anderswo eingestochen werden, um weitere Zellen (immer gleichzeitig aber nur eine!) auszusaugen. Zum Beweise hierfür führt Büsgen an, daß beim I. Stichtypus, bei dem die Nahrungsquelle ausschließlich der Weichbast ist, „... das Borstenbündel außerhalb derselben ganz oder fast ganz interzellulär verläuft. Hier kann die Nahrung eben nur dem Weichbast entnommen werden.“¹⁾

Ähnlich lautet auch die Ansicht Petris²⁾ über die Saugtätigkeit der Reblaus: „Der Saugrüssel wird nicht mit einer von den verletzten, aber dennoch lebenden Zellen, gebildeten Zellulosescheide umgeben, wie es Millardet behauptet, sondern einfach von einem warzigen Niederschlag bedeckt, welcher bei Berührung des Reblauspeichels mit dem Zellinhalt entsteht. Der Reblaus wird es also unmöglich, aus jenen Zellen Nahrung weiter zu saugen. Sie muß dann ihren Rüssel entweder tiefer einbohren oder etwas zurückziehen und seitwärts einstechen; da aber jedesmal ein Überzug mit dem erwähnten Niederschlag erfolgt, so erhält man schließlich verästelte Scheiden, welche uns die Saugtätigkeit und die Zeitlänge des Aufenthaltes der Reblaus verraten.“ Über die Reblaus habe ich selbst keine bezüglichen Untersuchungen angestellt, für die Blattläuse jedoch werde ich im folgenden Gelegenheit haben, eine von Büsgen völlig abweichende, mir jedoch einzig richtig scheinende Erklärung des Saugphänomens zu geben.

Vor allem verfolgte ich bei meinen Untersuchungen den Zweck, die bisher völlig unterschätzte Rolle des Speichelsekretes ins rechte Licht zu rücken. Die bezüglichen Ergebnisse seien in zwei Gruppen geteilt und gesondert besprochen. Einmal diejenigen Fälle, in denen eine bestimmte Zelle angestochen oder durchstochen wird, und dann die weitaus häufigste Erscheinung der interzellulären Aussaugung. In Fig. 21 sind die Sekretmassen des Tieres, die zugleich den Verlauf der Stiche erkennen lassen, schwarz gehalten. Das Bild zeigt zunächst einen Interzellulargang von zwei Stichen durchsetzt. Während jedoch der Stich links interzellulär verläuft, findet der zweite unmittelbar vor der vorgelegerten Zelle sein Ende. Scharfe Linsensysteme zeigten nun, daß ein äußerst feines Sekretzäpfchen die Zellulosewand durchbohrte und so in unmittelbare Berührung mit der äußeren Protoplasmahaut gekommen war. Der Protoplast scheint völlig intakt, trotzdem aber die Zelle sehr stark plasmalysiert, so zwar, daß sich der zusammengeschrumpfte Protoplastkörper in unmittelbarer Nähe der Einstichstelle befindet³⁾. Dieses Verhalten ist sehr auffallend, weil eine weitere Zelle rechts völlig intakt ist und keine Spur von Plasmolyse zeigt. Die Aussaugung war also hier wahrscheinlich der Hauptsache nach mechanisch durch das Saugrohr und vielleicht nur unter unbedeutender Mitwirkung seitens des gleichzeitig ausgetretenen Speichels erfolgt. Daß es sich hier nicht etwa um ein Augenblicksbild handelte, indem die Blattlaus eben im Begriff gewesen wäre, weiterzustechen, dafür spricht einmal das Fehlen des Borstenbündels im Stichkanal, ferner die Tatsache, daß der-

¹⁾ Büsgen, l. c. p. 50.

²⁾ Petri, L., Über die Wurzelfäule phyllox. Reben. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1909. p. 28.)

³⁾ Diese Methode wäre eine Parallele zum bekannten Verhalten der Haustorien von *Cystopus candidus*, welche ebenfalls, wenigstens in vielen Fällen, das Protoplasma nicht durchbohren, sondern lediglich einstülpen und damit die Aussaugung einleiten. (Vgl. auch v. Guttenberg, H., Beiträge zur physiologischen Anatomie der Pilzgallen. Leipzig 1905.)

selbe nachträglich größtenteils wieder mit Speichelsekret aufgefüllt wurde und mithin „ordnungsmäßig“ verlassen ward, und schließlich der Umstand, daß dieselbe Blattlaus den zweiten Stichkanal erst später geschaffen hatte, da sonst die in Rede stehende Zelle durch interzelluläre Aussaugung plasmolysiert worden wäre. Ich erwähne diesen Fall, nicht etwa, weil er die Regel bildet, ich habe ihn im Gegenteil unter zahllosen Bildern nur einmal beobachten können; sondern weil er dartut, daß unter Umständen, auch ohne Verletzung des Protoplasten eine intrazelluläre Aussaugung auf vorwiegend mechanischem Wege möglich ist. Viel häufiger zu beobachten ist nun das vollkommene Eindringen der Borsten und des Speichelsekretes in die betroffenen Zellen (Fig. 1). Wie wir schon (Textfig. 2) gesehen hatten, kommt es in solchen Fällen nicht selten zu einer vollkommenen Ausfüllung der betroffenen Zellen mit Stichkanalstoff. In unserem Bilde sehen wir nun das Eindringen des Borstenbündels in eine einzelne Zelle aus dem Rindenparenchym von *E. vonymus*. Das Sekret ist schwarz, die Protoplasten mit den eingeschlossenen Chloroplasten grau gehalten, der Pfeil bedeutet die Richtung des Einstiches, die Ziffern III und IV die entsprechenden Zellagen unter der Epidermis. Wir sehen, daß nach Durchbohrung der Zelle infolge einer vom Sekret ausgehenden osmotischen Saugkraft an allen Seiten der Zelle — von der Ein- und Austichstelle abgesehen — rasche Plasmolyse eintritt, wobei die Zelle ausgesaugt wird. In anderen Fällen, namentlich dann, wenn größere Speichelmassen in die Zelle eingepreßt werden, hebt sich infolge einer noch rascher vorgreifenden Plasmolyse der Plasmaschlauch — die Einstichstelle ausgenommen — von allen Seiten rasch ab und heftet sich schließlich nur mehr als unregelmäßig konturiertes Häutchen dem zentralen Speichelsekretklumpen an. Es geht also vom Stichkanalstoffe, der der Spitze des Maxillarrohres entquillt, eine äußerst starke osmotische Saugkraft aus, so daß die Zellen während des kurzen Zeitraumes, der zum Einstechen erforderlich ist, bereits unter Plasmolyse des größten Teiles des Zellsaftes und der in ihm gelösten, den Turgor bedingenden Substanzen verlustig gehen. Ich möchte dem Speichelsekrete vor allen Dingen die Eigenschaft zusprechen, längere Zeit hindurch semipermeabel zu sein, was allerdings den Auffassungen Büsgens und Petris widerspricht, zu welcher Annahme wir aber namentlich gezwungen werden, wenn wir den letzten und häufigsten, sozusagen, normalen Modus des Saugens verstehen wollen. Fig. 19 zeigt uns eine interzellulär verlaufende Stichspur in schwarzer Farbe und zwei angrenzende Zellreihen. Das Wesentlichste und für uns Interessanteste ist nun aber die Tatsache, daß sämtliche Zellen, in der Richtung senkrecht zum Verlaufe des Stichkanals mehr oder weniger plasmolysiert sind; fast in allen Zellen und auch in solchen einer entfernteren Zellreihe haben sich die Protoplasten von den entfernteren Zellwänden abgehoben und lassen so die Richtung erraten, in welcher ihnen Zellsaft entnommen worden war. Bei von *Aphis grossulariae* auf *Ribes aureum* erzeugten Stichen habe ich sogar sehen können, daß sich die Saugwirkung deutlich bis in eine dritte Zellage vom Stiche entfernt nachweisen läßt. Denn sogar dort war in der Richtung gegen den Stich Plasmolyse eingetreten¹⁾.

¹⁾ Eine ähnliche Auffassung von der Wirksamkeit des Speichelsekrets auch bei interzellulärem Stichverlauf, allerdings nicht hinsichtlich seiner osmotischen Saugkraft, sondern bezüglich einer Giftwirkung finden wir auch bei W. Busse (l. c. p. 423

Für unsere Frage ist es nun von größter Wichtigkeit, daß die Borsten allein bei interzellularem Stichverlauf absolut nicht zu saugen vermögen. Vielmehr zeigt sich, wie ich wiederholt gesehen habe, immer erst dann Plasmolyse, wenn Sekret ausgeströmt war, und plasmolysiert wurden nur diejenigen Zellen, an deren Wänden sich Sekret unmittelbar angelegt hatte. Auch Fig. 8 zeigt diese Verhältnisse sehr anschaulich. Das interzellulär von oben nach unten verlaufende Speichelsekret kommt im Mittelpunkt des Bildes mit drei Zellen in Berührung, deren starke Plasmolyse die unmittelbare Folge ist. Das Sekret ist also notwendig, weil nur bei vollständig geschlossenem Kontakte mit dem Zellsaftraume der einzelnen Zellen deren Aussaugung erfolgen kann und weil es die Ursache eines exosmotischen Saugstromes darstellt. Weiter erwähne ich die Beobachtung, daß ich bei einem Stichkanal, in dem das Borstenbündel noch stecken geblieben war, nur in der unmittelbaren Umgebung der spärlichen Sekretropfen, die dem Borstenbündel anhafteten, eine starke Plasmolyse fand, während überall sonst eine solche fehlte oder nur sehr schwach entwickelt war. Daß sie doch lokal nachweisbar war, mag wohl in erster Linie auf die geringen Speichelmengen zurückzuführen sein, die beim Nachdringen der Borsten sich als zarte Hülle um dieselben legten. Dafür, daß das Speichelsekret der Träger der osmotischen Saugkraft ist und ein Borstenbündel ohne Sekret bei interzellularem Verlauf nie zu saugen vermöchte, scheint mir auch zu sprechen, daß die Plasmolyse meist um so kräftiger aufgetreten war, je größere Massen dieser „Scheidensubstanz“ sich den Zellwänden angelagert hatten. Dieser dritte, wohl häufigste und wichtigste Typus des Sagens ist mir bei allen Pflanzen, die ich daraufhin untersucht habe, untergekommen: Bei *Rosa*, *Prunus*, *Ribes*, *Sambucus*, *Evyonymus* usw. An den Blättern von *Evyonymus* war die Durchquerung großer Interzellularräume, wie es die Luftgänge des Schwammparenchyms sind, von Interesse. Wollten die Tiere durch Ausfüllung des ganzen Hohlraumes mit Speichelsekret den für die interzelluläre Aussaugung nötigen Kontakt herstellen, so wären unverhältnismäßig große Sekretmengen notwendig. Ein verstärkter Sekreterguß unterbleibt daher in solchen Fällen; kommt aber das Borstenbündel, das hierfür ein äußerst feines Empfinden zu haben scheint, in kleinere Interzellularräume, so erfolgt sofort ein reichlicher Sekreterguß, so daß in kürzester Zeit alle getroffenen Zellen ausgesaugt werden.

Bevor ich nun auf Grund dieser Erfahrungen die Art des Vordringens der Borsten im Pflanzengewebe erkläre, möchte ich der Vorteile gedenken, die die interzelluläre Aussaugung gegenüber der intrazellulären besitzt. In Fig. 1 hatten wir gesehen, daß die ganze Sekretmenge, die dem Maxillarrohr in einer bestimmten Strecke entquillt, dazu diente, eine einzige Zelle auszusaugen, während, wie das Bild zeigt, alle Nachbarzellen völlig intakt und von der drohenden Aussaugung verschont geblieben waren. Eine gleiche Wirkungsbeschränkung gilt für den in Fig. 21

Fußnote 3): „Wie mir scheint, ist die Annahme von J. Kochs, daß für die Entstehung des roten Farbstoffes in den Epidermiszellen der von Schildläusen befallenen Äpfel giftige Ausscheidungen der Läuse nicht verantwortlich gemacht werden können, ungenügend begründet. In der Fruchtschale des Apfels liegt die Tendenz zur Rotfärbung vor, wie in der Hirsepflanze. Warum sollte dieser Vorgang nicht auch durch das Speicheldrüsensekret einer Schildlaus ausgelöst werden können? Ob die Saugstiche der Läuse interzellulär geführt werden, oder ob sie die Zellen verletzen, kommt dabei meines Erachtens ebensowenig in Betracht, wie die Tatsache, daß“

wiedergegebenen seltensten Modus. Ganz anders liegt nun der Effekt bei der interzellularen Aussaugung. Hier genügt ein relativ geringes Quantum Speichelflüssigkeit, um gleichzeitig zwei bis sechs und vielleicht noch mehr Zellreihen und dies im ganzen Umfang in den Bereich der Saugtätigkeit zu bringen und so in viel kürzerer Zeit, unter Aufwendung viel geringerer Substanz viel größere Nahrungsmengen dem Organismus zuzuführen. Es ist klar, daß demnach die Führung der Stiche, entgegen der von Büsgen zum Gegenbeweis herangezogenen Auffassung, in den Interzellulargängen und zwischen den einzelnen Zellen nicht etwa dem Zwecke dient, die betreffenden Gewebe zu schonen, oder einer Abneigung gegen deren Inhalt zuzuschreiben ist, sondern vielmehr den Schlüssel für eine ganz besonders kräftige und ausgiebige Saugtätigkeit bildet. Das Tier „schont“ nicht nur nicht die Pflanze, sondern nützt sie geradezu in rücksichtsloser Weise aus. Und jetzt scheint es auch verständlich, warum bisweilen so große Sekretmassen sich in angestochene Zellen ergießen, so daß diese zuweilen völlig ausgefüllt werden, wie wir in Textfig. 2 und Fig. 3, Tafel I für Zellen im Leptom sehen können. Der Zweck dieser Stoffvergeudung ist offenbar der, dadurch den Kontakt mit dem Nachbargewebe zu gewinnen und dieses in den Bereich der Saugwirkung zu bringen. Dieses Verfahren ist also, wie wir sehen, mit einem viel größeren Substanzverlust verbunden, zuweilen aber notwendig, namentlich in Gewebe, dessen Zellwände infolge der Zartheit keine Spaltung mehr zulassen und so die Tiere zwingen, vom interzellularen zum intrazellularen Stichverlauf überzugehen.

Nach diesen Feststellungen wollen wir nun versuchen, eine dem tatsächlichen Sachverhalte möglichst angelehnte Erklärung des Vordringens der Borsten im Pflanzengewebe zu geben. Die meisten Autoren, die sich damit beschäftigt haben, erklären dasselbe, wie ich oben bereits hingewiesen habe, als einen rein mechanischen Vorgang, in dem das Borstenbündel, speziell die Mandibeln, unter mannigfachen Zerstörungen immer tiefer dringen und dabei entweder die betroffenen Zellen durchbohren oder die Zellwände spalten. Ein Bedenken möchte ich vor allem gegen diese Ansicht vorbringen: Ein Auseinanderdrängen von Zellen, die einen Turgor von fünf bis zehn, mindestens doch aber von drei bis vier Atmosphären besitzen, erscheint mir keine allzu leichte Aufgabe; wir müssen uns doch vorstellen, daß die Zellen, die prall gespannt sind und überdies (meinen Untersuchungen liegt größtenteils interzellulairarmes Stengelgewebe zugrunde) gegeneinander sehr wenig ausweichen können, einer solchen mechanischen Auseinanderdrängung den stärksten Widerstand entgegensetzen werden, der, soll die Blattlaus ihr Ziel erreichen, nicht ohne unverhältnismäßig hohen Kraftaufwand seitens des Tieres überwunden werden kann. Daß die Tiere tatsächlich kaum oder gar nicht imstande sind, Zellen, in denen der Turgor mehrere Atmosphären beträgt, auseinanderzudrängen, habe ich an dem sehr interessanten und lehrreichen Verhalten der Spaltöffnungen gesehen, worauf wir noch im nächsten Kapitel zurückkommen werden. Es fragt sich also, ob nicht schon hier das Speichelsekret, dessen osmotische Saugkraft wir bereits kennen gelernt haben, an der Überwindung des Turgors der Rindenzellen speziellen Anteil nimmt. Da, wie wir wissen, das Speichelsekret nicht

zwischen den Borsten, sondern an deren Spitze zum Vorschein kommt, also dem eindringenden Borstenbündel vorausseilt oder doch dessen Spitze beständig begleitet, ist eine solche Vermutung nicht nur wahrscheinlich, sondern geradezu notwendig. In dem Augenblicke, wo das erste Tröpfchen an der Spitze des Saugrohres zum Vorschein kommt, wird dasselbe bereits seine osmotische Saugkraft entfalten, und, indem es zugleich dem Tiere Nahrung zuführt, den Turgor der betroffenen Zellen so weit herabsetzen, daß deren Lumen kleiner wird, ja schließlich Plasmolyse eintritt. Nunmehr kann das Borstenbündel leicht auf mechanischem Wege die vorgelagerte Zellwand längs der Mittellamelle spalten, wenn nicht, was erst zu untersuchen wäre, dem Speichel selbst eine bezügliche lösende Kraft innewohnen sollte. Mit dem Vordringen entquillt nun immer neues Speichelsekret, wodurch der von der Pflanze allem Anschein nach eingeleitete Ausgleich der Turgorschwankungen wieder aufgehoben und so in der Umgebung des mechanisch und mit Hilfe des Speichels vordringenden Borstenbündels stets bedeutender Minderdruck entsteht, bis die Pflanze, namentlich, wenn zahlreiche Läuse gleichzeitig von allen Seiten auf sie einstürmen, nicht mehr rasch genug osmotisch wirksame Substanzen herbeischaffen und so der Gefahr immer rascher vorschreitender Plasmolyse und schließlich Verwelkens steuern kann. Die Folge davon sind dann Bilder, wie wir sie bereits in den Figg. 8 und 19 kennen gelernt haben, und es ist wohl anzunehmen, daß in dem osmotischen Zustrom von Nährflüssigkeit zum Borstenbündel mindestens drei bis vier Zellschichten im ganzen Umkreis eines Zylinders einbezogen werden. Schließlich wird, da die Pflanzensäfte die beständige Stoffabsaugung nicht mehr rasch genug wettmachen können, zuerst in der äußeren Peripherie dieses Zylinders Plasmolyse eintreten, der dann in verstärkter Form die Zellen der unmittelbaren Umgebung des Borstenbündels folgen werden, wenn nicht, wie wir später noch sehen werden, die Lebensäußerungen der zunächstliegenden durch eine vom Speichel gleichzeitig ausgehende Giftwirkung, schon vorher sistiert worden sind. Wir dürfen uns überdies nicht vorstellen, daß alle Punkte eines solchen hypothetischen Zylinders von zuströmender Nährflüssigkeit in gleicher Weise und gleichzeitig engagiert sind. Ich glaube vielmehr, daß es immer jeweils nur eine bestimmte, auf einem Kreise angeordnete Gruppe von Zellen ist, die sich augenblicklich mit dem Ende des Borstenbündels, das ja allein die Nahrungsaufnahme besorgen kann, in einer Ebene befindet, während die weiter oben liegenden Zellen späterhin verschont bleiben. Welche Eigenschaften des Speichels nun eine solche Wirkung bedingen, darüber fehlen für die Blattläuse bisher entsprechende Untersuchungen. Es ist jedoch wahrscheinlich, daß die oben für so viele andere Gruppen von Rhynchoten festgestellte alkalische Reaktion und die hydrolytische Kraft des Speichelsekretes auch den Blattläusen zukommen werden. Es ist demnach anzunehmen, daß eine im Speichel vorhandene Diastase-ähnliche Ferment beständig Stärke in Zucker überführt, welcher seinerseits leicht exosmotisch dem Saugrohr zugeführt und von diesem aufgenommen werden kann. Neben den Untersuchungen der Speicheldrüsen auf ein derartiges Ferment, deren Kleinheit

allerdings manche Schwierigkeit bieten wird, werden auch genauere Untersuchungen über das Auftreten von Zucker in der Umgebung der Blattlausstiche notwendig sein.

Petri¹⁾ stellte diesbezüglich für *Phylloxera* fest: „Nach dem Eindringen in die Parenchymzellen werden die Borsten der Reblaus mit einem Pektingerbstoffniederschlag überzogen. Trotzdem sterben die durchbohrten Zellen ab und bräunen sich infolge der Oxydation von Tannin und anderen Phenolen. In den angrenzenden Zellen verschwindet sofort die Stärke und häufen sich verschiedene Zuckerarten reichlich an, worunter ich Saccharose und Glukose nachweisen konnte.“ Bezügliche Untersuchungen an Blattläusen sind noch nicht abgeschlossen. An Blättern von *Viburnum*, deren Oberseite und zwar Nerven mit *Aphis papaveris* reichlich besetzt waren, fand ich in unmittelbarer Umgebung der Einstichstellen,

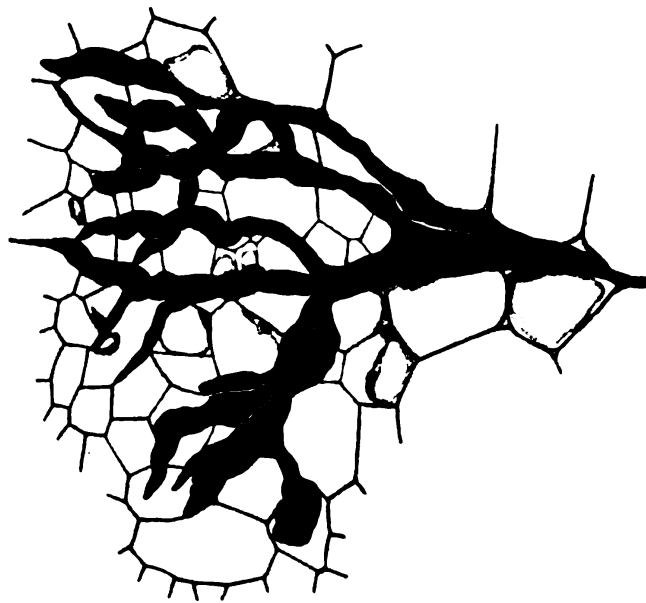


Fig. 3.

von den Gefäßbündelelementen bis zur Epidermis, reichlich Zucker und wir werden wohl nicht fehlgehen, daß sein Auftreten eine Folge der Saugtätigkeit ist. Zu Untersuchungszwecken eignen sich erwachsene Stengel besser als junge Organe, da der Zuckerreichtum in den letzteren eine einwandfreie Deutung erschwert. Die Anwesenheit des Zuckers beweist allerdings noch nicht, daß ein bezügliches Ferment vom Tiere geliefert wird; es ist sehr wohl möglich, daß die Pflanze selbst auf einen Reiz des Tieres hin Diastase erzeugt.

Doch möchte ich mich mit Rücksicht auf die Analogie bei anderen Rhynchoten der ersten Auffassung anschließen.

Von Wesenheit ist es ferner, daß zum Verständnis des Modus der interzellularen Aussaugung das Speichelsekret namentlich in der Umgebung der Borstenspitze mindestens eine zeitlang für Nährstoffe durchlässig bleibt, die Bildung starrer Scheiden durch Festwerden des Speichels also erst in einem viel späteren Zeitpunkt erfolgen kann. Je tiefer nun das Borstenbündel eingedrungen ist, um so schwerer wird es ihm, seinen interzellularen Weg beizubehalten, und im Leptom der Gefäßbündel sind Zelldurchbohrungen allgemein. Hier treten nun die vielen Verzweigungen auf, wie wir sie in Textfig. 3 sehen können und welche uns wohl dartun, daß hier die Hauptnahrungsquelle vorliegt, und die Tiere bemüht sind, dieselbe möglichst gründlich auszunützen. Gleichwohl möchte ich warnen, die Erscheinung der vielfachen Verzweigungen der Stichkanäle

¹⁾ Petri, l. c.

zu sehr zu überschätzen und daraus etwa den Schluß zu ziehen, das Aussaugen der Rinde sei von untergeordneter Bedeutung. Wir dürfen ja nicht vergessen, daß im Leptom bei dem fast konstant intrazellularen Stichverlauf ein geschlossener Nahrungszustrom nicht oder nur sehr unvollkommen entsteht, und die Tiere schon aus diesem Grunde gezwungen sein werden, viel öfter, dichter und in verschiedenen Richtungen einzustechen, um hier viel beschwerlicher zu erreichen, was ihnen im Rindengewebe leicht und rasch zuteil geworden war. Im Kapitel „Nahrungsquellen“ werden wir darauf noch zurückkommen.

Und nun zur Frage, ob die Durchlässigkeit des scheidenbildenden Speichels erhalten bleibt, oder doch schließlich infolge des Starrwerdens aufhört. Dazu möchte ich folgende Anschauung bringen. Ich habe an Bildern wiederholt gesehen, und Fig. 21 kann hierfür herangezogen werden, daß der Einstich der Blattläuse „unverständlicherweise“ häufig neben einem bereits vorhandenen Stichkanal erfolgt, obwohl man meinen sollte, daß das Tier die betreffende Zellgruppe bereits erschöpft hätte. Daraus glaube ich schließen zu dürfen, daß das ursprünglich flüssige bis zähflüssige Speichelsekret bei Berührung mit der Außenseite der Borsten erstarrt und dabei seine Durchlässigkeit schließlich einbüßt, daß aber infolge einer ersten Reizung seitens des bei größeren Tropfen hydrolytische Eigenschaften längere Zeit bewahrenden Sekretes der Nahrungszustrom noch längere Zeit fort dauert, so daß die Tiere, infolge eines den Borsten eigenen hierfür sehr feinen Sinnes, abermals in das besagte Gewebe eintauchen und dasselbe tributpflichtig machen. Sekundär werden dann diese Scheiden starre Röhrensysteme darstellen, die die Sicherheit in der Führung der Stiche zweifellos erhöhen. Es werden daher die im Kapitel „Scheide“ mitgeteilten Differenzierungen die äußeren Stichkanäle dergestalt umwandeln, während die hiervon verschonten feinsten Enden der zahlreichen Stichkanäle ein temporäres Haustoriensystem darstellen.

Die Aussaugung der Zellen erfolgt daher, wie wir gesehen haben, von der Peripherie des Pflanzenorgans gegen die Gefäßbündel zu, um dort in der Mehrzahl der Fälle das Maximum der Intensität zu erreichen, nie aber so, daß bei Durchquerung der äußeren Rindenzone diese unberührt bliebe und erst im Leptom das Saugen begänne. Auf einen Unterschied möchte ich hier hinweisen: Es gibt Stichkanäle, die nach dem Verlassen durch die Blattlaus bis zur Epidermis mit Sekret aufgefüllt erscheinen, welches überdies noch als feines Zäpfchen über die Epidermis vorragt, und daneben andere, welche gar keinen Inhalt zu enthalten scheinen und von Büsgen als leere Stiche oder Probestiche bezeichnet werden, von denen er annimmt, daß die Tiere hier gewissermaßen versuchsweise angestochen hätten, da sie nicht wissen könnten, wo das „Nährgewebe“ in der Pflanze liege. Diese Auffassung möchte ich keineswegs teilen. Wir werden später noch eine Reihe von Erscheinungen kennen lernen, die uns zwingen, den Tieren gerade in der Führung der Stiche und in der Auffindung der Nährzellen, soweit wir von solchen reden dürfen, große Präzision zuzuschreiben, ja sogar die Frage aufzuwerfen, ob nicht ein spezifisches Sinnesorgan vorhanden ist, das mit der Führung der Borsten betraut ist und denselben von den Turgor- und chemischen Verhältnissen Kenntnis verschafft. Ich möchte vielmehr glauben, daß die Tiere einmal

19*

tief gestochen durch die mannigfachen Verzweigungen sich ein förmliches Hyphen- und Haustoriensystem schaffen, durch das ihnen die Nahrung längere Zeit zuströmt, so daß der Saugprozeß auch während des Zurückziehens des Borstenbündels unter gleichzeitig erneuter Speichelabsonderung fort dauert, in anderen Fällen aber, namentlich, wenn die Pflanze an und für sich schon stark erschöpft erscheint, der betreffende Stichkanal rascher verlassen wird, wozu vielleicht auch ein Vertreiben der Läuse von den Versuchspflanzen Veranlassung sein mag. In solchen Fällen kommt es infolge Sistierung des Speichelergusses zu „leeren Stichen“.

Ferner dürfen wir uns nicht wundern, daß der Grad der Plasmolyse im Laufe eines Stichkanals unabhängig von den Speichelmengen wechselt. Wir müssen ja bedenken, daß zum Säftezustrom noch das Aufpumpen der Nahrung kommt, das in Intervallen erfolgen wird, also ein rhythmischer Vorgang ist.

Viele Autoren, so auch Büsgen sprechen von einer Verankerung des Borstenbündels im Gewebe, damit es sich während des Saugens nicht von der Stelle bewege. Demgegenüber sehe ich bei unserer Kenntnis vom Saugphänomen nicht ein, welchen Zweck eine solche Verankerung haben sollte. Das Borstenbündel befindet sich bei den Blattläusen wenigstens, nie in völliger Ruhe, sondern wird bald vor- bald rückwärts geschoben und seitwärts eingestochen; dabei geht der Saugprozeß beständig und ohne Unterbrechung vor sich und zwingen die wechselnden Turgorverhältnisse die Tiere stets, auf neuen Bahnen sich Zutritt zu neuen Nahrungsquellen zu schaffen. Der Vergleich der Bewegung des Borstenbündels, namentlich seiner feinen Spitze mit einer äußerst empfindlichen Zunge drängt sich unwillkürlich auf, wenn wir beispielsweise die Figur 3 ins Auge fassen. Das Borstenbündel vermag die feinsten Krümmungen zu machen, sich in einzelnen Zellen völlig herumzudrehen wie der Rüssel eines Elefanten umherzufahren und umherzutasten, Bewegungen also auszuführen, bei denen eine Verankerung nicht nur nicht von Vorteil, sondern eher ein höchst bedenkliches Hindernis in der freien, „willkürlichen“ Bewegung wäre.

Zwei Einwendungen möchte ich begegnen, die sich möglicherweise gegen meine Erklärungsversuche geltend machen werden. 1. Fragt es sich, ob nicht die in den Interzellularräumen vorhandene Luft ein Hindernis für die Ablagerung von Speichelsekret und dessen Vordringen bedeutet. Dazu ist zu bemerken, daß einmal das Sekret mit einer gewissen Gewalt in die Pflanze eingespritzt wird. Und dann glaube ich, daß dieselbe nur in den obersten Lagen hinderlich ist, daß sie aber den Borsten genau so im Wege sein würde wie dem Speichelsekret, wenn nicht das Tier vielleicht selbst anfänglich Luft auspumpt. Schließlich aber erfährt die Luft der Interzellularräume, wenn beim Saugen Turgor und Volumen der Zellen sinken und Luft vielleicht auch in die Zellen selbst eindringt, eine Verdünnung, welche von den Spaltöffnungen, die ja bei dem beständigen Wasserverlust geschlossen bleiben, kaum aufgehoben wird, so daß dieses Hindernis schließlich wegfallen wird. 2. Könnte jemand fragen: Ja, wenn das Speichelsekret von so kollossaler Wichtigkeit ist, wie können dann die Pflanzenläuse saugen, welche keine glänzende Scheidensubstanz besitzen? Damit, daß sie keine glänzenden Scheiden bilden, ist noch nicht gesagt, daß sie nicht auch Speichel absondern; jedenfalls aber in sehr geringer Menge, so daß sie eben hinreicht, jene Vorgänge anzuregen, die bei den Blattläusen so auffallend gewesen waren. Wahrscheinlich mischt sich die geringe Speichelmenge immer sofort mit der Nah-

rung und wird mit derselben zugleich wieder aufgepumpt. Zu untersuchen wird ferner sein, ob nicht der Mangel der Scheiden mit der geringen Bewegung des Saugapparates der genannten Tiere zusammenhängt. Jedenfalls aber schließt das Vorhandensein der Speicheldrüsen bei allen Läusen geradezu aus, daß dieselben in einem Falle eine Funktion haben sollen, in einem anderen nicht.

Über den Saugvorgang wurde zoologischerseits vielfach auch in voneinander oft stark abweichender Weise geschrieben. Während so Mark ¹⁾ die Kopf- und Schlundmuskulatur und deren Verlauf zu den Borsten als eine veritable Saugpumpe erklärte, die einen recht komplizierten Mechanismus zeige, bezeichnet Witlaczil ²⁾ auf Grund neuerer Untersuchungen diese Auffassung für irrig und wies nach, daß von einer Kolbenstange, wie Mark wollte, keine Spur vorhanden sei, sondern daß lediglich die Muskelzüge sich im Pharynx in einer Linie treffen und einen Stab vortäuschen. Diese Muskel im oberen Teil des Vorderkopfes haben keine andere Aufgabe, als durch Ausdehnung des Schlundes den Saugvorgang einzuleiten. Die Stechborsten werden, wie schon Gerstfeld ³⁾ gefunden hatte, durch je einen Levator oder Retraktor und einen Depressor oder Protraktor bewegt. Die Äußerung bei Witlaczil: „Da die Stechborsten nur wenig vorgestreckt werden können, so haben sie ihre Länge offenbar nur mit dem Längerwerden der Scheide zum Zwecke leichteren Saugens erhalten“ ist mir nicht ganz verständlich, denn tatsächlich vermögen die Tiere ihre Borsten sehr tief ins Gewebe zu senden und können, wie ich gesehen habe, nicht nur bis zu den Gefäßbündeln, sondern unter Umständen sogar bis ins Mark der Stengel vordringen. Geise ⁴⁾, der eine äußerst genaue Darstellung über die Funktion der einzelnen Muskelzüge gibt (speziell für den Schlundkopf der Wasservanzen), spricht schließlich von einer Duplikatur im Schlundkopf, von der er die Zerkleinerung und Zerreibung fester Nahrungsbestandteile erwartet, eine Auffassung, die sich bei Leon ⁵⁾ wiederfindet: „Die anfänglich aufgenommenen größeren Körner von Stärke usw. sind auf ihrem Wege bis hierher von dem Speichel gelöst worden; diejenigen, welche nicht löslich waren, werden durch die chitinösen Zähne zu zerkleinern versucht. Gelingt auch das nicht, so werden sie wieder entleert.“ Für die Aphen, Cocciden und Pflanzenläuse überhaupt möchte ich eine solche Auffassung entschieden ablehnen. Abgesehen davon, daß, wie wir gesehen haben, die größtenteils interzelluläre Aussaugung den Tieren gar nicht Gelegenheit gibt, Stärkekörner aufzunehmen, daß solche ferner sehr verhängnisvolle Verstopfungen der Saugröhre zur Folge haben müssen, ist mir namentlich das Wiederentleeren gar nicht verständlich. Welches Rohr soll dazu benutzt werden? Das Speichelrohr? Und wie soll die Nahrung dorthin kommen? Oder das Saugrohr? Dann würde also die ganze Flüssigkeit, die sich augenblicklich in demselben befindet, wieder zurückgepreßt werden. Aber wohin? Wir wissen ja, daß dem Saugrohr ein kontinuierlicher Flüssigkeitsstrom entgegenkommt und sich in demselben aufwärts bewegt, so daß das Saugen selbst den Tieren keine erhebliche Kraftleistung bedeutet. Ein Ausspeien der Nahrung mußte nun dieser Bewegung entgegenarbeiten, scheint mir daher un-

¹⁾ Mark, E. L., l. c.

²⁾ Witlaczil, E., l. c. p. 22.

³⁾ Gerstfeld, Über die Mundteile der saugenden Insekten. Leipzig 1853.

⁴⁾ Geise, O., l. c.

⁵⁾ Leon, N., l. c. p. 34 ff.

möglich. Über die Bedenken gegen die Auffassung vom Funktionieren der Mandibeln und der nach hinten gebogenen Hacken an denselben habe ich schon an anderer Stelle gesprochen. Geise vermutet, daß erst nach dem Eindringen der Mandibeln schließlich die Maxillen nachschießen; diese Auffassung kann vielleicht für die blutsaugenden Rhynchoten Geltung haben, bei den Aphiden ist sie unmöglich, da das Speichelsekret, wie wir gesehen haben, gerade beim Tieferstechen von größter Bedeutung ist und seine Anwesenheit mindestens gleichzeitig mit den Mandibeln notwendig ist. Am Schlusse bringe ich noch die bezügliche Auffassung Weddes¹⁾, die sich durch große Sicherheit in der Gedankenfolge, wenn auch nicht völlige Einwandfreiheit auszeichnet: „Der Vorgang des Saugaktes ist somit sehr einfach und etwa folgender: . . . sind dann die Borsten durch ihre Häkchen und Zähnchen in der Wunde fixiert, so erfolgt die Injektion des alkalischen Speicheldrüsensekretes. Die Folge davon ist, wie bekannt, ein erhöhter Säftezufluß nach der verwundeten Stelle. Jetzt erst beginnt das eigentliche Saugen.“ Nun schildert Wedde die Funktion der einzelnen Muskelzüge. „. . . aber das Zurückströmen der aufgesogenen Nahrung wird einmal durch die Flüssigkeitsfäule im Maxillarrohre verhütet, ferner dadurch, daß die Kontraktion des ersten musc. dil. phar. aufhört. . . .“

Durch ein sukzessives Nachlassen wird die Nahrung dann immer weiter rückwärts gepreßt und endlich in den Magen befördert. Daß bei dem Saugakte das lange Maxillarrohr wie ein Kapillarröhrchen wirkt, zumal bei den Aphiden und Cocciden, und das Aufsteigen der Flüssigkeit wesentlich fördert, ist ohne weiteres klar.“ Ein Vergleich dieser Vorstellung mit meinen Untersuchungsergebnissen zeigt eine völlige Umkehrung und Verkennung der Tatsachen, soweit die Blattläuse in Betracht kommen, eine Überschätzung der Muskel-tätigkeit und völlige Mißdeutung und Verkennung der Rolle des Speichels. Die Gefahr eines Zurückströmens der Nahrung ist bei dem beständigen osmotischen Nahrungszustrom absolut ausgeschlossen; dieser osmotische Druck ist vollkommen hinreichend, die Flüssigkeit in das Saugrohr zu pressen, aus dem sie schließlich vom Muskelapparat weitergeleitet wird. Eine Kapillari-täts-elevation zur Erklärung heranzuziehen, ist vollkommen überflüssig. Die zoologischerseits gemachten Fehler entspringen, von der Überschätzung der Bedeutung der tierischen Organisation abgesehen, vor allem dem Glauben, daß die gesamte Saugarbeit ein mechanischer und nicht zum großen Teile auch chemisch-physikalischer Vorgang sei, der nur durch die Kraft des Tieres möglich wäre.

Rolle der Epidermiszellen und Spaltöffnungen beim Eindringen der Borsten.

Das Durchsetzen der Epidermiszellen seitens der Borstenbündel ist uns bereits einigemal untergekommen; so in Fig. 9, wo noch das Borstenbündel stecken geblieben war, ferner in Textfigur 2, wo die Außenwand der Epidermiszellen nur von einer schmalen Speicheldrüsensekretlinie erfüllt war und von letzterem noch zapfenförmig überlagert wurde. Wollen wir die Frage nach der Rolle dieser äußersten Zellelemente des Pflanzenkörpers klar verstehen, so ist vor allem die Beantwortung zweier Fragen notwendig: 1. Ist die Epidermis für die Tiere ein Hindernis, deren Außenwand sie nur mit Mühe zu durchsetzen vermögen? und 2. Spielt auch hier das Speichel-

¹⁾ Wedde, H., l. c. p. 28 ff.

sekret eine den Durchtritt erleichternde Rolle oder nicht?

Für die Beantwortung der ersten Frage lehrreich ist Fig. 5. Da zeigt sich, daß die Läuse — und wir dürfen wohl annehmen, daß dies vor allem für jüngere Tiere gilt — oft vergeblich den Versuch machen, in die Pflanze einzudringen, daß sie aber nicht imstande waren, die Cutikula und vor allem die bei Evonymus besonders mächtigen Cutikularschichten mit ihren Mandibularborsten zu durchsetzen. Die Mächtigkeit der Cutikularschichten stellt also ein bis zu einem gewissen Grade wertvolles Schutzmittel der Pflanze gegen die Blattläuse dar. Starke vermögen ohne erhebliche Schwierigkeit die Epidermis zu durchstechen, wie Fig. 22 zeigt und namentlich unschwer dann wenn die Epidermen an und für sich zarter gebaut sind, wie bei Rosa (Textfig. 1). Hinsichtlich Fig. 22 mache ich besonders darauf aufmerksam, daß das Eindringen ohne Zuhilfenahme des Speichelsekrets erfolgen kann; letzteres wurde hier erst nach Durchsetzen der Cutikularschichten ausgeschieden, also in dem Augenblicke, wo sich das Tier seiner zwecks Herstellung eines osmotisch wirksamen Kontaktes mit den Epidermiszellen mit Erfolg bedienen konnte. Nun ist aber in Fig. 9 nicht nur innerhalb der Epidermiszellen, sondern auch außerhalb derselben Speichelsekret vorhanden, das Tier hatte hier also schon vor dem Eindringen in die Pflanze solches abgesondert. Und diese Tatsache führt uns wieder auf Fig. 5 zurück. Die Tiere versuchen jedenfalls zuerst auf rein mechanischem Wege die Epidermis zu durchsetzen, gelingt ihnen das aber nicht, so wird Sekret abgesondert, von dem sich die Tiere, ähnlich wie sie es ja im Innern des Pflanzengewebes wiederholt erfahren haben, ein leichteres Eindringen erhoffen; doch hat dasselbe auf die Konsistenz der Cutikularschichten keinen Einfluß, seine Absonderung ist nur ein vergebliches Bemühen. Daß schließlich beim Durchdringen doch nur die Borsten den Ausschlag geben, zeigt wieder Fig. 9, in welcher trotz Absonderung von Sekret vor Einstich in die Pflanze die Durchquerung der Außenwand frei von jeglichem Sekrete ist. Aus Fig. 10 dürfen wir ferner den sehr wichtigen Schluß ziehen, daß das Speichelsekret auf die Turgorverhältnisse der Epidermiszellen, so lange es denselben außen angelagert ist, gar keinen Einfluß hat, denn in unserem Bilde ist die Plasmolyse erst von dem den Stichkanal in der Radialwand füllenden Speichel eingeleitet worden. Eine weitere Folge des Umstandes, daß beim Durchqueren der Epidermisaußenwände kein Sekret abgeschieden wird, ist schließlich die Erscheinung, daß nach Verlassen des betreffenden Stichkanals von seiten der Borsten, die mechanisch geschaffene Öffnung in der Epidermisaußenwand wieder infolge der Elastizität der Cutikularschichten zu einem schmalen Kanal zusammenschließt, da mangels an Sekret überdies jede Scheidenbildung unterbleibt. Bei Rosa mit den zarteren Epidermen kommt diese Erscheinung zum Teile in Wegfall. Für diese mechanische Durchsetzung starker Epidermen bringt Büsgen einen Erklärungsversuch. Er vermutet, daß an den Blättern der *Cattleya crispa*, deren Epidermiszellen erstaunlich starke Außenwände besitzen, die Durchbohrung seitens einer Coccide durch die Struktur wesentlich erleichtert wird. „In ihrem äußeren Teile zeigten sie eine zu ihrer

Fläche senkrechte Streifung, aus welcher wohl geschlossen werden darf, daß sie in dieser Richtung relativ leicht spaltbar sind. Die gewöhnliche, der Blattfläche parallele Schichtung ist auf einen ziemlich dünnen, innersten Teil der Wand beschränkt.

Noch klarer wird uns die Rolle des Speichelsekrets beim Studium der Bedeutung der Spaltöffnungen für die einsteichenden Blattläuse. Die Auffassung, daß die Spaltöffnungen willkommene Eintrittspforten darstellen, eine Auffassung, die sich bei Pilzinfektionen wiederholt bewährt hat, ist so geläufig, daß man auch bei den Pflanzenläusen auf den Gedanken gebracht wird, die Tiere würden die Zentralspalten schon mit Rücksicht auf die erheblichen Schwierigkeiten, die ihnen das Durchsetzen der Cutikularschichten bietet, mit Vorliebe benützen. Doch dem ist nicht so. Die normale und häufigste, wohl 95 Proz. aller Fälle ausmachende Methode der Benützung der Stomata ist in Fig. 2 festgehalten, demnach stechen die Tiere die Stomata dort an, wo sie einerseits zum Ansatz der Borsten die größte Sicherheit gewinnen können und andererseits die Außenwände der Zellen am dünnsten sind und die schwächste Cutinisierung zeigen, also an den äußeren Hautgelenken. Diese Tatsache, die für uns theoretisch von größter Wichtigkeit sein muß, ist bisher völlig unbekannt geblieben. Wohl spricht Morstatt¹⁾ davon, einmal die Durchbohrung einer Spaltöffnung durch eine Schildlaus gesehen zu haben, doch gibt er über die näheren Umstände nichts an, und die zuweilen zu lesenden Mitteilungen, so bei Banti²⁾, von einer Verstopfung der Spaltöffnungen durch die Blattläuse verstehen sich so, daß durch die Absonderungen aus dem After und die Ablagerung dieses „Honigtaus“ auf den Blättern schließlich die Stomata erstickt werden.

Eine nähere Betrachtung des Sachverhaltes bestätigt nun die an den Epidermiszellen gewonnenen Tatsachen von neuem. Nachdem ich die Erscheinung des rückenwandständigen Stichkanalverlaufs an den Schließzellen nicht bloß an den derb gebauten Stengeln, sondern auch an den Blättern von *Evonymus*, ferner an den zarteren Epidermen von *Ribes* gesehen habe, müssen wir annehmen, daß die Stomata, wenn die Tiere beim Abtasten der Oberfläche die Zentralspalten gefunden haben, an und für sich eine mechanische Auseinanderdrängung der Schließzellen nicht zulassen. Daß die Spaltöffnungen geschlossen sind, habe ich einmal oft beobachtet und halte ferner dafür, daß ein solches Verhalten allen jenem Pflanzenorgan angehörenden Luftspalten zukommt, da ja der beständige Wasserverlust die Pflanze automatisch zu dieser Maßnahme zwingen dürfte. Es käme somit den Tieren die Aufgabe zu, die Stomata auf mechanischem Wege durch kräftiges Vorstoßen der Borsten zu öffnen.

Solche Versuche habe ich vereinzelt sogar gesehen, und gefunden, daß in diesem Falle der ganze Vorhof mit Speichel erfüllt war, welcher zapfenartig über die Eisodialöffnung der Spalte vorragte; die Blattlaus hatte aber, wie das Bild lehrt, den Versuch schließlich, weil erfolglos, aufgegeben. Sie war also weder mechanisch noch unter Zuhilfenahme

¹⁾ Morstatt, l. c.

²⁾ Banti, A., Gli Afidi e modi per combatterli. (Italia agraria nel 20. secolo. Ann. 2. Fasc. 18. Pistoia 1900.)

des Speichelsekrets imstande, einzudringen und an den Turgorverhältnissen der beiden Schließzellen, die in festem Verbande mit turgeszenten Epidermiszellen standen, etwas zu ändern. Ein einziges Mal (Fig. 17), habe ich nun gesehen, daß die Schließzellen tatsächlich von einem sehr kräftigen Borstenbündel geöffnet wurden, welch letzteres auch weiterhin ohne Rücksicht auf die Lage der Zellwände in gerader Richtung nach innen vordrang. Die in der Fig. 17, linke Schließzelle zeigt jedoch Deformationen, sie erscheint stark nach außen gedrückt, ihre Rückenwand und zum Teil auch das innere Hautgelenk sind infolge eines dort herrschenden Überdrucks von der Schließzelle und ihren Nebenzellen erheblich verdickt. Plasmolyse aber zeigt die linke Schließzelle keine; die rechte konzentriert ihre Plasmamassen an der bedrohten Bauchwand.

Dieses Verhalten der Schließzellen ist eine wertvolle Bestätigung der über das Saugphänomen und das Vordringen der Borsten im Pflanzengewebe gewonnenen Anschauungen. Ich habe dort gesagt, daß ich ein rein mechanisches Vordringen der Stechborsten ohne Zuhilfenahme von Speichelsekret für unmöglich halte, da der hohe Atmosphärendruck ein unüberwindliches Hindernis darstellt. Daß dem so ist, haben wir eben an den mit mindestens fünf Atmosphären turgeszenten Schließzellen der Stomata gesehen, nur alte, kräftige Tiere vermögen dennoch einzudringen. Die im Innern mögliche und notwendige Verwendung des Speichelsekretes zur Überwindung des Turgors hat sich jedoch überall dort, wo kutinisierte Schichten einen unmittelbaren Kontakt mit Cellulosewänden verhindern, als Zwecklosigkeit herausgestellt. War sie schon an den gewöhnlichen Epidermiszellen eine Vergeudung von Stoff, so gilt dies in erhöhtem Maße an den Spaltöffnungen (soweit die Läuse die Zentralspalte zu benutzen versuchten), da die Schließzellen ja bis zur inneren Atemhöhle mit einer Cuticula ausgestattet sind, nirgends also dem Sekrete einen günstigen Angriffspunkt bieten. Es liegt meines Erachtens daher nicht so sehr an der Dicke der Cuticularschichten, wenn das Sekret der Speicheldrüsen unwirksam bleibt, sondern überhaupt an der Anwesenheit jener fettartigen Substanz, die als Cutin bezeichnet wird und vor allem imstande sein dürfte, die Wirkung eines hydrolytischen Fermentes auszuschalten.

Nach diesen wichtigen Betrachtungen möchte ich noch feststellen, an welchen Punkten der Schließzellen demnach den Läusen das Eindringen die geringsten Schwierigkeiten bereitet. Vor allem sind es, wie wir schon sahen, die Konturen über den Rückenwänden, also das gesamte äußere Hautgelenk. Man findet aber auch nicht selten, daß die Zellwand zwischen den beiden Schließzellen, soweit sie nicht die Zentralspalte bildet, namentlich dort, wo Bauch- und Rückenwand aneinanderstoßen, angestochen wird. Der weitere Verlauf ist dann verschieden. Meist bleibt das Borstenbündel in der Mittellamelle zwischen Schließ- und Nebenzelle und durchsetzt dann in irgendeiner Richtung die meist geräumige innere Atemhöhle (Fig. 2). Nicht selten aber dringt der Stich, offenbar vom Gehalt der Schließzelle an Kohlehydraten angezogen, in dieselbe ein, durchsetzt sie dann in Richtung von der Rücken- zur Bauchwand, und gelangt schließlich wieder in die Atemhöhle. Die klaglose

Durchsetzung der Atemhöhle scheint mir — analog jener großer Interzellularräume im Schwammparenchym des Blattes — ein weiterer Beweis dafür zu sein, daß die Borsten beim Tiefstechen keineswegs auseinanderklaffen, sondern ohne Führung ihr Ziel erreichen. Zuweilen sind ja diese Räume sehr groß und dann mußte, wenn das Sekret eine feste Hülle bilden sollte, dasselbe sofort erstarren, was in Widerspruch zu seiner Hauptfunktion steht. Die großen Mengen von Speichelsekret, die sich in die Atemhöhle ergießen, haben keinen andern Zweck, als möglich rasch mit den nährstoffliefernden Zellen den Kontakt zu gewinnen, da die Tiere nicht wissen können, wie weit der Weg bis dahin ist. Ein Zeichen besonders feinen Empfindens scheint es mir übrigens zu sein, daß die Tiere die Dicke der Cutikularschichten wahrnehmen und den Hautgelenken mit besonderer Vorliebe ihren Besuch abstatten. Wenn bei *Artemisia Absinthium* schon vor Einstich in die Epidermiszellen ein reicher Speichelerguß seitens der Tiere stattfindet, so liegt hier offenbar die Erscheinung vor, daß, da die Tiere mehrere Lagen von Epidermishaaren, die selbst sehr fein gebaut sind, zu durchsetzen haben, das Saugphänomen bereits vor dem Eindringen in den Pflanzenkörper beginnt.

Stichverlauf im Pflanzengewebe.

Außer durch Büs gen ist dieser in ernährungsphysiologischer Beziehung wichtigen Frage nur sehr wenig Beachtung geschenkt worden. So heißt es im Lehrbuch der europäischen Forstinsekten¹⁾ über die Schaumzikaden: „Der Stichkanal der Larven geht bis auf den Splint und läuft dann kurz auf die Längsrichtung der Rute nach einer oder nach beiden Seiten im Cambium weiter, wie ein ein- oder zweiarmiger Wagegang.“ Nach Morstatt²⁾ verläuft der Stichkanal der Diaspis im Innern der Rinde „nicht mehr so gradlinig, er ist schwach hin- und hergebogen und kann auch teilweise interzellulär laufen. Er biegt vor Sklerenchymfasergruppen rechtwinklig ab, um sie zu umgehen, und endet im Parenchym der sekundären Rinde, oft direkt vor einer größeren Zellgruppe eines Sklerenchymringes. Ein Verlauf des Stichkanals in einem Markstrahl der Rinde wurde nie beobachtet.“ Büs gen³⁾ schildert drei verschiedene Typen, die zu unterscheiden insofern von Wichtigkeit ist, als sie jedesmal andere Zellgruppen als Hauptnahrungsquelle erkennen lassen. Der häufigste Fall war der, daß die Blattläuse unter mannigfachen Windungen einem Gefäßbündel zustrebten, um im Bereiche desselben zahlreiche Verästelungen zu treiben. Diese an *Aphis cardui* auf *Carduus crispus*, *Aphis Viburni* auf *Viburnum Opulus*, *Aphis Tanacetii*, *Aph. Avenae*, *Aph. Sambuci*, *Aphis Papaveris*, *Aph. Evonymi*; *Gymnadenia conopea* und Malvaceen und Aroideen bewohnenden *Aphis*, schließlich an verschiedenen Cocciden gemachte Beobachtung fand ich bei meinen Untersuchungsobjekten durchwegs bestätigt. Als neue Fälle schließen sich daher den obengenannten an: *Aphis grossulariae*, *Aphis capsellae* (?), *Siphonophora Rosae* und *Siphonophora Absinthii*, so daß wir wohl sagen können, daß dieser Typus der bei den Blattläusen herrschende ist. Während jedoch die Borstenbündel

¹⁾ Judeich u. Nitsche, Lehrbuch der europäischen Forstinsekten. Bd. 2. 1895. p. 1191.

²⁾ Morstatt, l. c. p. 353.

³⁾ Büs gen, l. c. p. 38 ff.

in den meisten Fällen die ihnen vorgelagerten Elemente mechanischer Scheiden an der Leptomseite der Gefäßbündel zu umgehen suchen, kommt es zuweilen vor, daß diese Zellen interzellulär durchdrungen werden, wie Büsgen für *Aphis Papaveris* auf *Papaver collinum* gefunden hatte und ich für die schwarze Blattlaus auf *Capsella bursa pastoris* bestätigen kann. Richtig bemerkt Büsgen, daß dadurch die Bedeutung des mechanischen Ringes, dessen Elemente einfach auseinandergeschoben werden, als Schutzmittel viel verloren hat. Die Durchquerung des Kollenchyms, wie z. B. bei *Sambucus* erfolgt wohl stets auf interzellulärem Wege.

Zwar habe ich den von Büsgen beschriebenen zweiten Typus, bei dem die Tiere nicht einfach vertikal auf das Gefäßbündel zu einstechen, sondern meist schiefe, der Oberfläche nahezu parallele Stiche erzeugen, um schließlich unter mancherlei Windungen, die sie in einem Kreise fast wieder zur Einstichstelle zurückführen, die Rinde zu durchwandern, nie beobachten können, doch sind mir an Tieren, die zweifellos zum ersten Stichtypus zählen, Unregelmäßigkeiten aufgefallen, die gewissermaßen einen Übergang zum zweiten Typus zeigen oder doch erkennen lassen, daß eine so scharfe Unterscheidung einzelner Typen vielfach nicht gut möglich ist. So sah ich bei *Aphis grossulariae* auf *Ribes rubrum* neben normal radio-centralen Stichen einen parallel der Oberfläche zwischen der ersten und zweiten Lage des Rindenparenchyms verlaufen, bei vielen Schnitten sind mir schräg geführte Stichkanäle untergekommen, die gar nie ein Gefäßbündel erreicht hatten, und wir werden später noch Fälle kennen lernen, daß die Tiere bloß einige wenige Zellen tief ins Rindenparenchym stechen und die betreffenden aus später zu erörternden Gründen wieder verlassen haben. Im Kapitel „Öldrüsen“ werden wir noch Erscheinungen kennen lernen, die eine völlige Abschwenkung von der normalen Richtung und ein Zurückstechen in der Richtung gegen die Epidermis zeigen. Alle diese Betrachtungen in Verbindung mit der beim Saugphänomen behandelten Tatsache, daß das Rindenparenchym ebenfalls sehr stark als Nahrungsquelle in Anspruch genommen wird, lassen den von Büsgen aufgestellten ersten Typus weniger scharf umgrenzt erscheinen, als ja das ganze Gewebe in Mitleidenschaft gezogen wird und in vielen Fällen erst nach Erschöpfung der Rinde das Gefäßbündel als Nahrungsquelle herangezogen wird. Der Unterschied in der Verwertung der einzelnen Zelltypen und Gewebekomplexe ist also nicht wesentlicher, sondern nur gradueller Natur.

Weiter erwähne ich in diesem Zusammenhange, daß bei *Artemisia Absinthium* von der *Siphonophora absinthii* nicht selten zwischen zwei Gefäßbündeln hindurch bis tief ins Mark gestochen wird, eine Erscheinung, die sich eigentlich in keinen der von Büsgen aufgestellten Typen einreihen läßt. Die von Petri¹⁾ untersuchten Verhältnisse an *Dactylopius*, wobei sich die ausgesaugten Zellen in den tieferen Geweben befinden, „d. h. sie sind Siebröhren und Cambiformzellen mit Durchbohrung der Querwände,“ gehören dem dritten von Büsgen an *Lachnus* auf *Picea alba* beschriebenen Typus an.

An den Blättern von *Evonymus* erfolgen die meisten Stiche der an der Unterseite sitzenden Läuse in der Richtung gegen das Gefäßbündel, an das sich die Tiere, wie schon Büsgen beobachtete, instinktiv setzen.

¹⁾ Petri, L., Einige Bemerkungen über die Rolle der Milben bei der *Dactylopius*-krankheit der Reben (l. c. p. 378).

Häufig sind aber auch die Stiche unabhängig von der Lage der Blattnerven, sie dringen an irgendeiner Stelle der Blattfläche in das Innere ein und dortselbst bis in die 2. und 1. Lage des Pallisadengewebes vor, aus dem sie häufig Nahrung nehmen. Von Probestichen dürfen wir selbstverständlich nicht sprechen, wie Büsgen hinsichtlich der Saugtätigkeit einer gelben Schildlaus auf *Pteris allosora*-Blättern vermutet, denn gerade der solide Zapfen glänzender Substanz, welche das Tier bei seinem Vordringen durch 4 Zelllagen zurückgelassen hatte, ist ein Fingerzeig stattgehabter Saugtätigkeit.

Nahrungsquellen.

Nunmehr wollen wir die Frage nach den Nahrungsquellen insoweit erledigen, als zur Entscheidung darüber, welche Rolle bei unserem überall geltenden ersten Stichtypus die Epidermiszellen, die Rinde und das eigentliche Leitungs-gewebe, die Gefäßbündel spielen, nötig ist. Der Rolle der Kristallbehälter, Öldrüsen und des Gerbstoffes soll erst später gedacht werden. Büsgen bemühte sich, für seinen ersten Stichtypus den Nachweis zu bringen, daß die Tiere mit Ausnahme vielleicht jener Zellen, welche beim Vorschieben der Borsten durchbohrt werden, Rinde und Epidermis völlig intakt lassen, und stützt sich dabei vornehmlich auf den interzellularen Stichverlauf. Vor allem verweist er darauf, daß das Zustandekommen einer dichtgedrängten Blattlauskolonie, wie sie z. B. die schwarze Blattlaus der Hollundertriebe darbietet, undenkbar wäre, wenn die Tiere die äußeren Zellen ihres Substrates töteten. Dieser äußere Erfolg ist nach Büsgen bedingt durch eine innere Einrichtung der äußeren Pflanzengewebe, ihrem Gehalt an Gerbstoff. Unter Hinweis auf das bekannte Werk von Stahl¹⁾ macht Büsgen den höheren Gerbstoffgehalt der Epidermiszellen dafür verantwortlich, daß die Tiere aus diesen Zellen nicht saugen, sondern interzellulär möglichst rasch tiefer dringen, um so aus dem Bereiche jener unbrauchbaren Stoffe in das eigentliche Nährgewebe zu gelangen. Auch bei anderer Gelegenheit sagt Büsgen²⁾, daß es sich gezeigt hat, daß der Gerbstoff „häufig die Rolle eines Schutzmittels gegen Tierfraß spielt, und einer solchen Funktion würde es nicht widersprechen, wenn er von einem Orte, wo er in dieser Eigenschaft überflüssig geworden ist, weggeführt würde, um anderwärts wieder aufzutreten.“ Davon übrigens noch später. Ohne hier schon die Rolle des Gerbstoffes endgültig zu besprechen, sei einiger Beobachtungen gedacht, die zeigen, daß die Epidermiszellen trotz ihres auch von mir konstatierten Gehaltes an Gerbstoff nicht nur nicht selten, sondern sogar recht häufig ausgesaugt werden. Schon in Fig. 10 war zu sehen, daß die beiden dem interzellularen Stiche anliegenden Zellen der Epidermis größtenteils ausgesaugt worden waren. Einen besonders typischen Fall aber zeigt Fig. 11. Ein Stich war hier in eine Epidermiszelle eingedrungen, Sekret abgesondert und die Zelle vollständig ausgesaugt worden. Gewiß mag der Gerbstoffgehalt dieser und der Nachbarzellen Schuld gewesen sein, daß das Tier nicht mehr weitergestochen hatte, die Tatsache faktischer Aussaugung von Epidermiszellen läßt sich jedoch nicht widerlegen. Obzwar W. Busse³⁾ in seiner Abhandlung über die Blattlauskrankheit keine eingehenden anatomischen Untersuchungen angestellt hatte, läßt sich aus seinen

¹⁾ Stahl, Pflanzen und Schnecken. Jena 1889.

²⁾ Büsgen, M., Beobachtungen über das Verhalten des Gerbstoffes in den Pflanzen. p. 59.

³⁾ Busse, W., l. c. p. 332.

Beobachtungen entnehmen, daß auch er an der Saftentnahme aus peripher liegenden Zellschichten festhält, wenigstens machte er die Wahrnehmungen deutlicher Schrumpfungen der Epidermis und Hypodermis im nächsten Umkreis des Blattlausstiches: „Bereits mit einer scharfen Lupe kann man an den betreffenden eine schwache Einsenkung der Oberhaut deutlich erkennen. Ob diese Schrumpfungen schon infolge des Saftentzuges eintreten, oder ob sie auf eine Giftwirkung des Aphidenspeichels zurückzuführen sind, muß dahingestellt bleiben.“

Doch nicht bloß die Epidermiszellen, sondern alle übrigen tieferliegenden Zellagen des Rindenparenchyms werden, wie wir schon beim „Saugphänomen“ gesehen haben, in hohem Grade in Anspruch genommen. Büsgen macht, gestützt auf seine Auffassung von der Bedeutung interzellulär geführter Stichkanäle auch hier den Gerbstoff verantwortlich und zieht in Fällen, wo solche Schutzmittel fehlen, wie in den von *Aphis avenae* besuchten Gräsern, die Eiweißarmut des Zellsaftes der Rindenparenchymzellen als Ursache für deren Schöpfung heran. Ich bin aber überzeugt, daß Mikrotomschnitte auch für diese Objekte die interzelluläre Aussaugung der Rinde werden nachweisen lassen. Der Säfteverlust der äußeren Zellschichten ist also nach dieser Sachlage kein geringer; allerdings zeigen die einzelnen von mir untersuchten Objekte Verschiedenheiten und Abstufungen, als *Evonymus* darunter stark zu leiden hat, während beispielsweise *Artemisia* die interzelluläre Aussaugung viel schwächer zeigt und vielleicht dadurch eine größere Widerstandsfähigkeit an den Tag legt als alle anderen Objekte. Diese Art der Nahrungsaufnahme vereitelt also nicht, wie Büsgen meinte, die Bildung dichter Blattlauskolonien, denn auch bei *Aphis sambuci* ist sie vorhanden, wohl aber beeinflußt sie die Widerstandsfähigkeit der betreffenden Objekte, was in Verbindung mit später zu besprechenden Giftwirkungen schließlich zum Welken und Verfall der Wirtspflanze führen muß.

Von hohem Interesse ist nun die Saugtätigkeit in der Gefäßbündelregion. Büsgen¹⁾ sagt über die Bedeutung der einzelnen Zellelemente des Leptoms als Nahrungsquelle für die Blattlaus: „Ich habe bis jetzt nicht bemerkt, daß bestimmte Elemente des Weichbastes, etwa die Siebröhren, hierbei bevorzugt würden, und in der Tat läge dafür auch kein Grund vor. Prüfen wir die drei den Weichbast zusammensetzenden Zellformen auf den Nährwert ihres Inhaltes für die Pflanzenläuse, so finden wir sie in dieser Beziehung gleichstehend Das Eiweiß wird als Schleim oder in gerinnbarem Saft gefunden, also in Formen, welche saugenden Insekten auch bei großer Enge des Saugrohres zugänglich sind. Daneben fehlen auch die zur Honigtaubildung notwendigen Kohlehydrate nicht. Das erwiesene Vorhandensein von Stärkekörnern in den Kambiformzellen und Siebröhren läßt schließen, daß entsprechende Substanzen auch in gelöster Form daselbst vorkommen.“ Auch der *Dactylopius*²⁾ nimmt seine Nahrung gewöhnlich aus den Siebröhren und Geleitzellen: „Im Gegensatz zum Verhalten der Reblaus, welche selten das Gefäßbündel, sondern stets das Parenchym und die Rindenmarkstrahlen angreift, läßt der *Dactylopius* fast immer diese Gewebe unversehrt.“

Hier möchte ich nochmals der Textfigur 3, S. 290 gedenken. Von einem

¹⁾ Büsgen, M., Honigtau p. 49.

²⁾ Petri, L., *Dactylopiuskrankheit*, l. c. p. 377.

Stichkanal, der ein Gefäßbündel erreicht, zweigen nicht weniger als 15 Kanäle ab, welche in verschiedenen dem Tiere erreichbaren Richtungen das Leptom durchsetzen und dessen Zellen fast durchwegs auf intrazellularem Wege aussaugen. Obwohl ich schon oben darauf hingewiesen habe, daß diese reichen Verzweigungen teilweise der Unmöglichkeit, einen geschlossenen Saftstrom wie beim intrazellularen Stichverlauf zu erzielen, ihren Ursprung verdanken, legt eine so reiche Verzweigung wohl die Annahme nahe, daß die Tiere das eiweißreiche Leptom mit besonderer Gründlichkeit aussaugen, da ihnen ja in der Rinde ohnedies Kohlehydrate schon in reichem Maße zur Verfügung gestanden haben. Das Verhältnis zwischen Kohlehydraten und Eiweiß ist, wie wir wissen, ein für die Blattläuse ungünstiges. Schon in Fig. 3 haben wir gesehen, daß die Blattläuse beim Aussaugen der Leptomelemente sehr vorsichtig zu Werke gehen. In unserem Bilde hat das Borstenbündel, von einem sehr feinen chemischen Sinne geleitet, eine benachbarte Siebröhre



Fig. 4.

ausgesogen. Doch dürfen wir den Siebröhren vor den Geleitzellen keineswegs den Vorzug geben. An Stichen in der Gefäßbündelregion des Blattes von *Evonymus* habe ich gesehen, daß auch die Geleitzellen Gegenstand lebhaften Interesses sind. Ein Stichkanal traf zunächst eine Gruppe von drei Geleitzellen, welche neben drei Siebröhren lagen, durchzog dann in drei Kanälen die drei Siebröhren und einer von ihnen wandte sich mit vier Zweigen einer rechts folgenden Gruppe von acht Geleitzellen zu, in oder zwischen denen die letzten Ausläufer endeten. Es fin-

det also beim Besuche des Leptoms eine ebenso gründliche Verwertung der Siebröhren, wie der Geleitzellen statt, was bereits Büsgen vermutet hatte. Daß in den Blättern die Gefäßbündel eine besondere Anziehungskraft ausüben, lehrte mich folgendes Bild: Ein Stich kam von der Blattunterseite gegen das Assimilationsgewebe in gerader Richtung. Unmittelbar vor einer Sammelzelle machte er jedoch ein scharfes Knie und wandte sich einem danebenliegenden Gefäßbündel zu, in dessen Parenchymscheide er eindrang.

Eine weitere Erscheinung ist bisher viel zu wenig beachtet worden; die Rolle der Elemente des Hadroms. In den meisten Fällen enden die Stiche allerdings schon im Leptom. Nicht selten aber, wie bei den Blattläusen auf *Evonymus* und *Ribes rubrum* drangen sie weiter vor bis in die Gefäße, wie die untenstehende Textfigur 4 zeigt. In derselben sind die Gefäße grau, das Sekret schwarz gehalten und es drangen die Stichzweige, nach Durchbohrung der Hadromelemente sogar eine Strecke gegen das Mark vor.

Die Durchbohrung der Gefäße macht den Tieren anscheinend gar keine Schwierigkeiten; dabei wird in denselben ebenfalls reichlich Sekret abge-

schieden. Fig. 16 zeigt uns weiterhin das Vordringen eines Stiches in der Längsrichtung des Gefäßes, in welches sich reichliche Mengen von Speichelsekret ergossen. Es darf wohl angenommen werden, daß sonach die Tiere unter Umständen auch die Gefäße an- oder aussaugen, wofür schließlich auch die reiche Verzweigung der Stiche in den Tracheiden im Blatte von *Ribes rubrum* spricht. Abgesehen von einem Wasser- und vielleicht Salzbedürfnis der Tiere liegt der Grund des Vordringens bis ins Hadrom wahrscheinlich in dem immer stärker zur Geltung kommenden Wassermangel der peripheren Gewebe, namentlich wenn große Kolonien den Stengel umlagern. Die Tiere sind daher nicht mehr imstande, ihr Nahrungsbedürfnis zu befriedigen, greifen das Hadrom an und senden ihre Borsten schließlich über dasselbe hinaus ins Mark wie bei *Evonymus*, oder suchen das Mark interfascicular zu erreichen wie bei *Artemisia*. Die Aussaugung der Pflanze ist demnach, trotz einer unstreitigen Bevorzugung der Gefäßbündel, keineswegs auf diese beschränkt, alle Gewebe werden in Mitleidenschaft gezogen; von irgendeiner Schonung ist keine Rede. Rücksichtslos werden die verschiedenen Zellen in den Dienst der Befriedigung eines ganz unglaublich großen Nahrungsbedürfnisses gestellt. Hinsichtlich des letzteren dürfen wir wohl gewisse Schwankungen im Bedürfnisse nach Kohlehydraten, Eiweiß, Wasser und Salz annehmen, und es scheinen die Tiere, wir werden

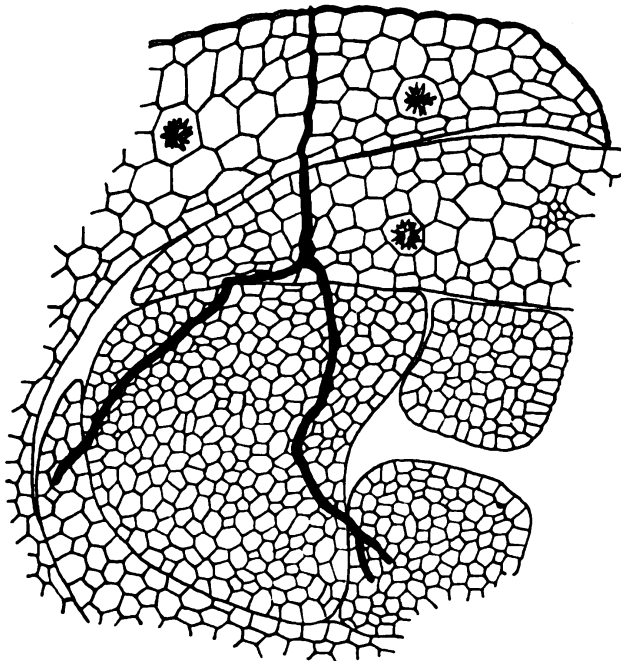


Fig. 5.

in einem der Schlußkapitel dieser Frage noch nähertreten, befähigt, mit Hilfe eines sehr feinen Sinnesapparates chemische Qualitäten und Turgorverhältnisse zu unterscheiden.

Wenn, worauf zuerst Büsgen hingewiesen hat, die Lokalisation der Nahrungsquellen auf bestimmte Zelltypen statthat, dann müssen wir uns wohl auch fragen, von welchem Augenblicke der Gewebedifferenzierungen angefangen, wir dieselbe gelten lassen können. Denn wenn wir die nebenstehende Textfigur heranziehen, so wird es sofort klar, daß die Antwort darauf nicht so ohne weiteres gegeben werden kann. Wir sehen hier den Stichverlauf, durch eine Blattlaus verursacht, die an einer jungen, noch mit den Schutzblättern völlig bedeckten Knospe von *Evonymus* saß und sog. Die Stiche durchquerten zwei Hüllblätter und durchdrangen in verschiedener Richtung die hier im Querschnitt gezeichneten, noch völlig undifferenzierten Vegetationskegel, ja reichten zum Teile über dieselben

hinaus, wieder in das Gewebe von Hüllblättern der anderen Seite hinein. Eine Differenzierung der Zellen in chemischer Beziehung liegt kaum vor, alle Zellen sind reich beladen mit plastischen Baustoffen, alle werden daher der Blattlaus höchst willkommene Nahrungsquellen sein. Von irgend-einem der von Büsgen genannten Stichtypen kann an noch nicht differenzierten Geweben also keine Rede sein. Die für meristematisches Gewebe wohl allgemein geltende Tatsache erwähne ich hier vor allem deshalb, weil die Blattläuse notorisch mit Vorliebe solche Gewebe besiedeln und ihre Schäden, wie noch im vorletzten Kapitel zu besprechen sein wird, besonders tiefgreifender Natur sind.

Alles in allem erwogen ist also der tatsächliche Erfolg der Saugwirkung — zunächst von allen Giftwirkungen abgesehen — ein kolossaler Säfteverlust, der in einer bedeutenden Abnahme des Turgors sämtlicher Zellen bis zum vollständigen Turgorverlust seinen klaren Ausdruck findet. Ob auch schon hier, wie d'Arsonval¹⁾ an Bakterien und Hefepilzen gezeigt hat, eine merklich geänderte Empfindlichkeit gegenüber Temperaturschwankungen gegeben ist, wäre erst noch zu untersuchen

Reaktionen der Zellen.

Obzwar über bezügliche Vorgänge bereits einige Mitteilungen vorliegen, sind dieselben doch vielfach zu unbestimmt und beschränken sich häufig auf die äußerlich wahrnehmbaren Zerstörungen und Erscheinungen des Absterbens und lassen mit wenigen Ausnahmen die für diese Frage so wichtigen cytologischen Umbildungen völlig außer Betracht. So heißt es bei Judeich und Nitsche²⁾ bezüglich *Lachnus exsiccat*, daß die Wirkung des Stiches der einzelnen Blattlaus gering ist und daß die Wucherungen des Kambiums zwischen Holzkörper und Rinde erst eine Folge der großen Zahl von Läusen sind, welche bei ihrem kolonieweisen Zusammensitzen ihre Einzelwirkungen summieren. Ausführlich beschäftigt sich Kochs³⁾ mit der Entstehungsursache der roten, gelben grünen und anders gefärbten Flecken, die die Schildläuse bei ihrem Saugen an Äpfeln und anderen Früchten hervorrufen. Die grünen Flecken, welche *Aspidiotus nerii* an Zitronen verursacht, sind auf eine Verhinderung des Reifeprozesses zurückzuführen. Die Chlorophyllkörner bleiben unverändert, der gelbe Farbstoff entsteht nicht. Auch Lindinger⁴⁾ nimmt darauf Bezug und Morstatt⁵⁾ macht eine solche für die Einsenkung ganzer Schilde verantwortlich, so daß dort das Wachstum der reifenden Frucht völlig sistiert ist. Sodann bespricht Kochs orangegelbe Flecken, für welche er als Ursache Pilze heranzieht. Für die roten Flecken, die am stärksten durch *A. perniciosus* hervorgerufen werden, nimmt Kochs eine Frühreife an. Die von den Läusen ausgeschiedenen Enzyme verwandeln die festen Kohlehydrate in flüssige, was in weiterer Folge die Ausbildung von Anthokyan bedingt. Die angestochenen Zellen sind übrigens davon frei, während nach

¹⁾ D'Arsonval, La pression osmotique et son rôle de défendre contre le froid. (Compt. rend. hebdom. Paris. 8. Juli 1901; Referat: Hollrung, Jahresber. 1902.)

²⁾ Judeich u. Nitsche, l. c. Bd. 2. 1895. p. 1203.

³⁾ Kochs, J., Beiträge zur Einwirkung der Schildläuse auf das Pflanzengewebe. (Jahrb. d. Hamburg. Wissenschaftl. Anstalt. Bd. 17. 1900.)

⁴⁾ Lindinger, Die Schildläuse, Coccidae. Stuttgart 1912.

⁵⁾ Morstatt, l. c.

B u s s e¹⁾ solche das Zentrum der Rotfärbung darstellen. P e t r i²⁾ fand, daß die von einer Schildlaus angesaugten Zellen an den Wurzeln des Ölbaumes durch das Tier, dessen Borstenbündel keine Scheide unlöslicher Verbindungen bildet, getötet und nachträglich von der Pflanze von Korkgewebe umschlossen werden. Reichliche Pektinverbindungen finden sich in den Interzellularräumen, Zellinhalt und Zellwand erscheinen ockergelb gefärbt, wahrscheinlich infolge einer Oxydation von Gerbstoffen. Hyperplasien treten erst dann auf, wenn das Rostrum den Kambiumring erreicht hat. K o c h s fand ferner in den tiefer gelegenen Schichten, am Grunde solcher Vertiefungen Nester von Steinzellen und glaubt, daß die lokale Saftentziehung und ein vermindertes Wachstum des Fruchtfleisches ihre Entstehung angeregt hat.

Die im folgenden zu schildernden Veränderungen an den Zellen der Wirtspflanzen, die in letzter Linie auf Giftwirkungen zurückzuführen sein werden, lassen sich, das sei vorausgeschickt, keineswegs in gleicher Weise an allen Pflanzen beobachten. Während so z. B. *Artemisia absinthium* außer Plasmolyse sozusagen keine Veränderungen an den angesaugten Zellen zeigt, treten bei *Evonymus*, *Sambucus* und *Rosa* sehr lebhaft Reaktionen auf, die zwar auf eine und dieselbe Grundursache zurückzuführen sind und gleichwertige Tendenzen repräsentieren, jedoch in der äußeren Erscheinung der stattgehabten Veränderungen so sehr voneinander abweichen, daß sie getrennt besprochen werden müssen.

Vor allem ist es nicht gleichgültig, ob die in Rede stehende Zelle durchbohrt oder bloß von einem vorbeifließenden Sekretfaden beeinflusst wird. Im ersteren Falle kommt es, wie wir wissen, zu einer völligen Durchdringung von Zellinhalt und Speichelsekret, was, da überdies ja der Plasmaschlauch durchbohrt und die Zelle plasmolysiert wird, die schließliche Abtötung der betreffenden Zelle zur Folge hat. Sind, wie häufig der Fall, die Speichelabsonderungen nicht so bedeutend, so kommt es in manchen Fällen, wie auch schon B ü s g e n beobachtet hatte, noch zur Bildung eines äußerst zarten Zellulosehäutchens in der Umgebung des Sekretes, das sich bei Zusatz von Schwefelsäure zu mit Jodjodkalium behandelten Objekten als zartes bläuliches Häutchen abhebt. M o r s t a t t fand zwar, daß oft plasmareiche Zellen von den Saugborsten durchbohrt werden, ohne daß damit eine Veränderung des Zellinhaltes sichtbar wurde. Auch am Ende der Saugborsten konnte er keine Beschädigungen im Gewebe wahrnehmen. Trotzdem möchte ich für die Blattläuse behaupten, daß einmal durchbohrte Zellen früher oder später daran zugrunde gehen. Denn abgesehen von der tödlich wirkenden Plasmolyse zeigen sich später häufig die schon in Textfigur 2 festgehaltenen Veränderungen. Die Zellinhalte werden lebhaft braun, wirken infolge ihres Gerbstoffgehaltes mit Safranin intensiv färbbar und zeigen im mikroskopischen Bilde unzweideutige Züge fortschreitender Zerstörung. Auch die Veränderung der Zellen an phylloxerierten Reben faßt P e t r i übereinstimmend als Zeichen langsamen Absterbens des angegriffenen Gewebes auf.

Waren so die durchbohrten Zellen mechanisch beschädigt und in ihrer Reaktionskraft bedeutend geschwächt, so liegt bei interzellularem Stichverlauf wahrscheinlich lediglich ein chemischer Reiz vor, auf den die Zellen viel präziser antworten können. Betrachten wir zunächst jene Bildungen

¹⁾ Busse, W., l. c.

²⁾ Petri, L., Sopra un caso di parassitismo di una cocciniglia sulle radici di olivo. (Rendic. accad. dei Lincei 16. 2. Sem. Roma 1907; Referat: Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1909.)

an den in Mitleidenschaft gezogenen Zellen von *Evonymus*, die ich als „Kappen“ bezeichnen möchte (Fig. 4 u. 8). An denjenigen Punkten der dem Stichkanal anliegenden Zellen treten die genannten Kappen auf, wo die Protoplasten dem Speichelsekrete am nächsten sind. Sie sind von wechselnder Gestalt, brotleibartig, häufig an der dem Stiche abgekehrten Fläche eingedellt, an den Punkten der stärksten Krümmung entweder abgerundet oder sie laufen in ein zartes, allmählich undeutlich werdendes Häutchen aus. Besonders schön sind sie an mit Safranin gefärbten Präparaten; während jedoch das Sekret intensiv rot ist, haben die Kappen einen Stich ins Bläuliche, lassen in der Mehrzahl der Fälle einen dunkleren schwarzroten Zentralkörper unterscheiden, um den sich eine lichtere Zone legt, die meist wieder von einer dunkleren Kontur umrandet wird, oder sie sind einheitlich schwarzrot und haben einige wenige dunkel umrandete hellere Flecken. Das Wesentlichste ist aber, daß sie mit dem Protoplasma der Zellen, denen sie angehören, in direktem organischen Zusammenhang stehen, daß das Protoplasma einfach in diese Kappen übergeht. Ein Zellkern war in all diesen Fällen nur selten zu finden gewesen. Solche Bilder finden sich nicht nur in den Parenchymzellen der Rinde, sondern auch an Epidermiszellen und es scheint mir höchst auffallend, daß die beiden den Stich begleitenden Epidermiszellen diese Zellkappen in der äußersten Ecke, also dem Punkte des Einstiches am nächsten gebildet hatten. Kappenbildungen sah ich bei *Evonymus* bloß an Zellen, die nicht durchbohrt waren, sie beschränken sich jedoch nicht auf die unmittelbaren Nachbarzellen interzellulärer Stichkanäle, sondern finden sich auch an Zellen, welche an durchbohrte Zellen grenzten. Es läge zunächst die Vermutung nahe, daß diese Kappen Zelluloseabscheidungen der in Mitleidenschaft gezogenen Zellen wären; spricht schon die Farbenreaktion mit Safranin dagegen, so überzeugen weitere Reaktionen von der Irrigkeit dieser Auffassung. In Jodjodkalium werden sie gleich dem Protoplasma braun, ein Zusatz von Schwefelsäure verändert sie nicht. Während sie mit Safranin gefärbt homogen erscheinen, zeigen sie in entfärbten Schnitten deutliche Granulierung und beweisen damit aufs neue, daß sie nichts anderes als Plasmapartien sind, die eine krankhafte Veränderung erfahren haben. Bevor wir die Frage nach der Herkunft dieser Kappen und die Rolle des Zellkernes betrachten, seien die ähnlichen Bildungen an *Samucus* besprochen.

Die meisten Stiche sind von glänzenden, verschieden breiten, oft zapfen- und traubenartig entwickelten Massen begleitet, die direkt in die an den Stichkanal herantretenden Wände der Nachbarzellen überzugehen scheinen und im mikroskopischen Bilde dunkle, scharfe, oft aus kleinen Bogen zusammengesetzte Konturen zeigen. Auffallend ist weiterhin, daß sich diese fraglichen Massen im Gegensatz zur Unfärbbarkeit des Speichelsekretes mit Hämatoxylin schwach bläulich und mit Safranin kaum oder nur gelblich färben. Die Betrachtung des mikroskopischen Bildes gestattet häufig selbst mit starken Linsensystemen keine scharfe Abgrenzung gegen den Stichkanal zu, auch läßt sich nicht entscheiden, ob die senkrecht zur Stichlinie laufenden Zellwände direkt in die äußeren Konturen der „Kappen“ übergehen oder nicht. Oft ist die Umsäumung dieser Massen keine bestimmte, sie erscheinen gekörnelt und greifen häufig an den entgegengesetzten Zellwänden empor. In Eau de Javelle differenzieren sich die Bilder: die mit Hämatoxylin schwach gefärbten Zellwände entfärben sich, werden glänzend weiß, während die Kappen ihren

bläulichen Farbton behalten, schwach granuliert erscheinen, sich zugleich etwas abheben und dabei ihre Zugehörigkeit zum Protoplasten dokumentieren. Jetzt sieht man auch deutlich die Zellwände bis an den Stichkanal herantreten (Fig. 12) und dort in die den Stichkanal begleitenden Wände übergehen, so daß die Kappen vom Speichelsekret abgegrenzt sind. Eine nachträgliche Einwirkung auf die mit Eau de Javelle differenzierten Schnitte, in denen das Speichelsekret lediglich durch stärkeres Lichtbrechungsvermögen hervorgetreten war, mit Kalilauge färbt dasselbe lebhaft gelb bis braun und läßt über seine Verteilung keinen Zweifel mehr übrig. Weitere Reaktionen auf Zellulose zeigen, daß die Kappen damit nichts zu tun haben. In Figur 12 sind die Kappen granuliert, die Zellulosewände weiß, die Speichelsekrettropfen grau eingetragen. Erwähnen möchte ich noch, daß ähnliche Bildungen bei *Sambucus* auch an durchstochenen Zellen vorkommen.

Wir kommen nunmehr zur Entstehungsgeschichte der besagten Kappen. Figur 13 zeigt für *Evonymus* den interessanten Fall, daß eine teilweise schon plasmolysierte Zelle an der dem Stichkanal zugekehrten Seite reiche Plasmamengen angesammelt hat und daß sich auch der Zellkern unmittelbar neben dem interzellulär ausgeschiedenen Speichelsekretropfen befindet. Der Plasmabelag der übrigen Zelle, die einige Chlorophyllkörner führt, ist äußerst dünn. Es hat hier also, wie der erste Blick lehrt, ein aktives Hinwandern des Zellkerns und mit ihm von Protoplasma nach dem Punkte der größten Gefahr stattgefunden. Interessant sind aber vor allem jene Stadien, die wir als Übergänge von Figur 13 zu den in Figur 4 und 8 abgebildeten fertigen Kappen ansehen müssen. Der Kern wird zunächst größer, er hypertrophiert, das Kernkörperchen verschwindet, schließlich verliert er seine fein granuliert Struktur und bildet in letzter Linie jene anscheinend homogene Masse, die wir als Zentrum der Kappen vorgefunden haben. Gleichzeitig damit legt sich eine kleinere oder größere Plasmamenge um ihn, die ebenfalls ihre Struktur verändert und weiteren hyalinen Umhüllungsmassen das Material abgibt, welche wir an den *Evonymus*-Kappen mehr oder weniger mächtig entwickelt finden.

Von Interesse für unsere Frage ist also zweierlei: Einmal das aktive Verhalten des Zellkernes und dann die Umwandlung, die die lebende Zellsubstanz unter dem Einflusse wahrscheinlich eines Giftes vom Speichelsekret durch die Zellwand hindurch erfährt. Ein solches aktives Verhalten des Kernes habe ich nicht nur bei *Evonymus*, sondern auch bei *Sambucus* sehr schön beobachten können. War er auch in einigen wenigen Fällen nicht unmittelbar neben dem Stichkanal, so ließ sich seine Wanderung doch für 80—90 Proz. aller Fälle mit Sicherheit feststellen. Bei *Sambucus* sah ich in einem Falle die Kerne beider Nachbarzellen eines interzellulären Stichverlaufes unmittelbar neben den Zonen größter Gefahr. Eine gleiche Orientierung sah ich ferner auch bei *Rosa*, für welche in Figur 14 der Kern einer Zelle eingetragen ist. Von besonderer Wichtigkeit scheint mir jedoch das bezügliche Verhalten bei *Artemisia absinthium*. Wenn es richtig ist, daß der Kern auf einen vom Speichelsekret aus-

gehenden Reiz durch aktives Wandern und weitere Abwehrmaßregeln antwortet, so ist es für die Tatsache zunächst gleichgültig, ob das Speichelsekret infolge von Giftwirkungen morphologische Veränderungen an den betroffenen Zellen hervorruft oder nicht. Es handelt sich ja um zwei voneinander unabhängige Erscheinungen: Das Wandern des Zellkernes als eine Lebensäußerung der bedrohten Zelle, die Kappenbildung als eine Giftwirkung seitens des Speichelsekretes. Obwohl nun bei *Artemisia* Kappenbildungen fehlen, ließ sich doch wiederholt die aktive Rolle des Zellkernes feststellen, ja, die Zellkerne zeigten, dem Wirkungsbereiche des Speichels ausgesetzt, sogar schwache Zellkernhypertrophien, die allerdings auf einem niederen Stadium der Entwicklung stehen geblieben waren, aber doch einen wichtigen Übergang zu den echten Kappen von *Evonymus* und *Sambucus* bildeten. Diese Verhältnisse werden uns noch bei Besprechung des Grades von Empfindlichkeit und Reizbarkeit verschiedener Pflanzen den Blattläusen gegenüber beschäftigen.

Die aktive Rolle des Zellkernes ist in der Literatur wiederholt betont worden, bei pathologischen wie normalen Wachstumserscheinungen. Vor allem hat *Haberlandt*¹⁾ auf die Wichtigkeit der Rolle des Kernes in wachsenden oder sich differenzierenden Pflanzenzellen hingewiesen und gezeigt, daß die Zellkerne die spezifischen Entwicklungsrichtungen in den Organismen bedingen und die spezifische Ausgestaltung jedes einzelnen Organs, Gewebes und jeder Zelle anregen und beherrschen. Er hat gefunden, daß die Lage des Zellkernes in sich entwickelnden Pflanzenzellen sehr häufig keine regellose ist, sondern in Übereinstimmung steht mit seiner Funktion als Träger des die Entwicklung beherrschenden Idioplasmas. Die von *E. Küster*²⁾ zwar bestrittene, im Grunde aber zweifellos richtige Deutung der Kernfunktion ist auf pathologischem Gebiete von mehreren Forschern ausgebaut und erweitert worden.

So haben *W. Magnus*³⁾ und *K. Shibata*⁴⁾ für die endotrophe *Mycorrhiza* festgestellt, daß die Klumpenbildung meist in nächster Nähe des amöboidgestalteten Kernes beginnt, oft sogar unmittelbar auf demselben; daß ferner der Kern nicht bloß bei der Verdauung der Hyphe eine wichtige Rolle spielt, sondern auch an der Erzeugung jener amyloidartigen Klumpensubstanz wesentlich beteiligt ist. Vor allem hat aber *H. v. Guttenberg*⁵⁾ in zwei grundlegenden Abhandlungen die Rolle des Zellkernes beleuchtet. Für *Ustilago Maydis* auf *Zea Mays* fand er ein Hinwandern des Kernes und festes Anlagern an die Eindringungsstelle einer

¹⁾ *Haberlandt, G.*, Über die Beziehungen zwischen Lage und Funktion des Zellkernes. Jena 1887.

²⁾ *Küster, E.*, Über die Beziehungen der Lage des Zellkernes zu Zellenwachstum und Membranbildung. (Flora. 97. 1907. p. 1—23.)

³⁾ *Magnus, W.*, Studien an der endotrophen Mykorrhiza von *Neottia nid. avis*. (Jahrb. f. wiss. Botan. Bd. 35. 1900.)

⁴⁾ *Shibata, K.*, Cytologische Studien über die endotrophe Mykorrhiza. (Jahrb. f. wiss. Botan. Bd. 37. 1902. p. 645.)

⁵⁾ *Guttenberg, H. v.*, Beiträge zur physiologischen Anatomie der Pilzgallen. Leipzig 1905.

—, Cytologische Studien an *Synchytrium*-Gallen. (Jahrb. f. wiss. Botan. Bd. 46. 1909. p. 453.)

Verbreitungshyphe. „Es wird also durch die Hyphe ein Reiz auf den Protoplasten ausgeübt, der jedenfalls als traumatisch bezeichnet werden kann; es schließt das nicht aus, daß er vielleicht chemischer Natur ist, in welchem Falle die Bewegung des Kernes als eine chemotaktische anzusehen wäre.“ Ähnliches fand v. Guttentberg an anderen Pilzen, ferner in *Synchytrium*-Gallen, in denen sich der Kern der Wirtszelle stets eng dem *Synchytrium* anschmiegt.

Auf zytologische Veränderungen hat bereits Büs gen¹⁾ hingewiesen und gezeigt, daß die Chlorophyllkörner, welche bei *Opuntia chimochyla* gelb werden, an den von Schildläusen angesaugten Zellen von *Cattleya crispa* aufquellen und braun werden, während der Zellkern gleichzeitig in eine homogene Masse mit unregelmäßigem Umriß verwandelt wird. Ähnliche Mitteilungen bezüglich der Reblaus finden wir auch bei Petri²⁾: „Vom Cytoplasma bleibt nur ein dünner Wandbelag übrig; der Kern erfährt bedeutende Veränderungen. Er schwillt zunächst an und gewinnt an Färbbarkeit und wird dann körnig; der Nukleolus verkleinert sich und verliert an Färbbarkeit, zuweilen verschwindet er vollständig. In einem feineren Stadium wird das meiste Chromatin aufgelöst und es bleibt vom Kern nur eine beinahe erythrophile, schwer tingierbare, homogene Masse.“

Die von mir beobachteten Kappenbildungen sind nun unabhängig davon, ob sich an der betreffenden Stelle der Zellkern befindet oder nicht. So finden sich bei *Sambucus* zuweilen Kappen in Zellen, die in einiger Entfernung davon einen vollkommen intakten Zellkern enthalten und in Figur 4 zeigt die untere Zelle für *Evonymus* unmittelbar neben einer Kappe den zwar veränderten, aber als solchen doch noch deutlich erkennbaren Kern. Wenngleich also in der Mehrzahl der Fälle eine Zellkernhypertrophie der Kappenbildung vorangeht, müssen wir in den Kappen doch allgemein eine Reaktion des Speichels giftiger Natur auf die lebende Zells substanz, Protoplasma und Zellkern, erblicken. Liegen also dem Speichelsekrete Plasmamassen am nächsten, so werden diese zuerst verändert und zu homogenen Kappen, andernfalls fällt der Zellkern zuerst einer solchen Zerstörung anheim. Daß also der Kern meist den Mittelpunkt der Kappen bildet, ist nicht etwa seiner „Opferfreudigkeit“ zuzuschreiben, sondern lediglich dem Umstande, daß er sich, wohl in der „Absicht“, eine Abwehraktion einzuleiten, meist in dem Wirkungskreise des hypothetischen Speichelgiftes befindet. In den bisher betrachteten Fällen kommt es jedoch nicht dazu, der Kern geht zugrunde, die Zelle stirbt schließlich ab.

Und nunmehr betrachten wir die Veränderungen, die sich in den Zellen im Bereiche der Stichkanäle der *Siphonophora Rosae* auf *Rosa* zeigen. Plasmaansammlung und Kernlagerung in der unmittelbaren Nähe der Stiche wurden schon erwähnt. Die Figur 14 und 18 mit ihren mächtigen Umscheidungen der Stichkanäle erinnern allerdings an *Sambucus*. Im Gegensatz zu *Sambucus* sind diese Einkapselungen jedoch nicht körnig, sondern hyalin, färben sich mit Safranin ebenso wie die Zellulose der Zellwände und gehen ohne irgendeine wahrnehmbare Grenze in die Seitenwände der Nachbarzellen des Blattlausstiches über. Die hier entscheidenden Reaktionen, vor allem Chlorzinkjod und die Löslichkeit in Kupferoxydammoniak lassen

¹⁾ Büs gen, M., l. c. p. 57.

²⁾ Petri, L., Wurzelfäule, l. c. p. 40.

erkennen, daß die bezüglichen Bildungen nichts mit dem Speichelsekrete und dem Plasma der Pflanzenzellen zu tun haben, sondern reine Zellulose darstellen³⁾. Diese zuweilen beträchtlichen Wandverdickungen zeigen nun in ihrer Gestalt große Mannigfaltigkeit. In Figur 14 sind von den den Stich begleitenden Zellen besonders eine rechts oben und eine zweite links unten mit mächtigen Wandverdickungen im Bereiche des Blattlausstiches ausgezeichnet, beide Zellen sind zugleich stark plasmolysiert und besitzen eine geringe Anzahl relativ kleiner Stärkekörner. Diese sind in den beiden anderen Nachbarzellen zahlreicher und größer, die Wandverdickungen jedoch bedeutend schwächer. Die Zellen in größerer Entfernung zeigen außer Anlagerung massenhafter Stärkekörner an den dem Stiche zunächst liegenden Zellwänden und teilweiser Plasmolyse nichts auffallendes. Besonders instruktiv ist nun Figur 18. Die Zelle, von der die mächtige Wandverdickung eingeleitet worden war, zeigt nur spärliche, winzig kleine Stärkekörner, während eine zweite Zelle, die mit dem Stiche nicht in unmittelbare Berührung gekommen war, große Stärkekörner in großer Zahl aufweist. Hinzuweisen ist hier ferner darauf, daß von einer in dieser Figur nur angedeuteten rechts liegenden Zelle nur eine sehr schwache Zelluloseablagerung eingeleitet worden war. Die Ursache lag wohl darin, daß dieser Zelle als Behälter einer Calciumoxalatdrüse die für eine solche Reaktion nötigen Kohlehydrate wenigstens augenblicklich fehlten. Besonders hinweisen möchte ich hier auf die Figur 25. In dieser Zelle, die offenbar der Wirkung des Speichelsekretes am stärksten ausgesetzt war, erhebt sich ein mächtiges Zellulosepolster, welches sonderbarerweise nicht die ganze bedrohte Seite der Zelle umfaßt, sondern von einem tiefen, zellulosefreien Graben umgeben wird. Die aktive Rolle des Zellkernes an der Bildung dieses Polsters kommt hier besonders klar zum Ausdruck. Der Zellkern, an dem sich der stark plasmolysierte, nur wenige, kleine Stärkekörner führende Plasmaschlauch anschließt, hat seine linsenförmige Gestalt aufgegeben, sich stark abgeplattet und innig dem Zellulosepolster angeschmiegt, dessen Bildung er beherrscht. In einem anderen Falle habe ich wieder gesehen, daß Zellen, wofern der Protoplast bei der Durchbohrung nicht verletzt wird, imstande sind, den Stichkanal mit einer mächtigen Zellulosescheide zu umgeben und förmlich abzukapseln.

Alle die bisher besprochenen Fälle beziehen sich auf das relativ dünnwandige Rindenparenchym der Blattstiele. Man sollte nun meinen, daß das hypodermale, vielschichtige Collenchym mit Rücksicht auf seine relativ dicken Zellwände solcher Schutzmaßnahmen nicht bedürfte. Wider Erwarten zeigt nun Figur 6, daß alle Collenchymzellen, von der Epidermis angefangen, in der Umgebung der Stichkanäle kolossale Zellulosemassen abscheiden, so daß zuweilen die Lumina auf kleine Räume reduziert werden. Von Bedeutung ist es aber, daß die Zelluloseabscheidung nicht gleichmäßig an den den Stichkanal begleitenden Zellwänden erfolgt, sondern um etwa 45° gegen die Einstichstelle gedreht erscheint. Es beginnt demnach die Reaktion der Zellen in dem Augenblick, wo die Borstenspitze mit deren äußeren Ecke in Berührung kommt, von wo aus dann der Reiz in das Innere der Zelle ausstrahlt, worauf die Zelle durch

³⁾ Petri spricht in seiner Abhandlung über die Reblaus (l. c.) davon, daß als Folgeerscheinung des Reblausstiches in den tieferen Zellschichten des verletzten Parenchyms sich Kalllose in Form von Wandbelägen oder unregelmäßigen Wandverdickungen ausscheidet, die in späteren Stadien eine kaffeebraune Farbe annehmen. Nach Petri sind das lauter Zeichen langsamen Absterbens.

Zelluloseabsonderung antwortet. Dieses Verhalten gestattet zwei Schlüsse: 1. daß eine Giftwirkung — oder vielleicht ein traumatischer Reiz — stets an der Borstenspitze zur Entfaltung kommt, also nur von dem dort hervorquellenden Speichelsekret seinen Ausgang nehmen kann, denn würde dem Speichel auch späterhin dieselbe Wirkung zukommen, so müßte die Zelle mit weiteren Verdickungen der Zellwand längs der ganzen Berührungszone mit dem Stichkanal antworten. Das Bedenken, die Pflanzenzelle sei schon erschöpft oder hätte kein Baumaterial zur Verfügung, fällt bei den tiefer liegenden Zellen, die nur schwache Verdickungen eingeleitet hatten, jedenfalls weg. Möglich ist immerhin, daß infolge des raschen Vordringens des Borstenbündels ein Nachtransport von Kohlehydraten aus entfernteren Geweben nicht rasch genug erfolgen kann, so daß eine baldige Begrenzung des vorhandenen Baumaterials eintritt. 2. Die Wirkung des vom Sekret ausgehenden Reizes pflanzt sich in Form von Kugelformen fort.

Zelluloseabscheidungen als Reaktion der Pflanzenzelle gegenüber eindringenden Pilzhypen hat v. Guttenberg¹⁾ ausführlich beschrieben. Für die Reaktionen der *Capsella*-Zellen auf die Haustorien von *Albuga candida* nimmt er an, daß es sich wohl darum handelt, einen schädlichen Fremdkörper durch Einhüllung in Zellulose unschädlich zu machen. Für *Ustilago maydis* fand er eine lebhaftere Zellulosebildung unmittelbar an der gereizten Stelle, an der sich auch der Kern befindet. „Die derart entstehende Zellulose ist jedenfalls ein Umwandlungsprodukt der Hautschicht des Protoplasten, welches von dieser unter unmittelbarer Mitwirkung des Kernes gebildet wird. In dieses Zellulosepolster wächst nun die Hyphe hinein und es kommt zu einem Kampfe zwischen Pilz und Wirtszelle, in welchem ersterer Zellulose lösend, letztere Zellulose bildend wirkt.“ Bezüglich der Veränderungen an dem Kern der engagierten Zellen fand v. Guttenberg, daß er an der Stelle seiner größten Aktivität seine Kontur verliert und die Kernsubstanz in das umgebende Plasma ausstrahlt, womit meine in Figur 21 wiedergegebenen Beobachtungen weitgehend übereinstimmen.

Die Unterschiede zwischen den zytologischen Wirkungen in den Pilzgallen und den Einflüssen des eindringenden Blattlaushypensystems sind in einer Reihe von Momenten begründet. Einmal dürfen wir nicht vergessen, daß die mit Speichel erfüllten Stichkanäle der Läuse zwar chemisch aktiv, aber doch tote Massen sind, die nur mit Hilfe eines sehr wahrscheinlich hydrolytischen Fermentes und einer in ihrem Wesen noch vollständig unbekannten Giftwirkung sich geltend machen können. Es handelt sich also bei der Pflanze im wesentlichen um einen Schutz gegen das Eindringen bestimmter Substanzen, dessen Sicherung ihr in manchen Fällen vielleicht gelingt. Die Pilzhaustorien wirken ferner erst dann, wenn sie infolge ihrer Zellulose lösenden Kraft in das Innere einer Zelle eingedrungen und mit der Hautschicht des Protoplasten in direkte Berührung gekommen sind, während das Blattlaus-speichelsekret bei interzellularem Stichverlauf am ergiebigsten wirkt, wenn also die Zellwand zwischen Sekret und Zellinhalt intakt bleibt. Was bei den Pilzhypen der Pflanze vor allem so gefährlich wird, ist ihre Fähigkeit,

¹⁾ Guttenberg, H. v., Beiträge zur physiologischen Anatomie der Pilzgallen. Leipzig 1905.

Zellulose zu lösen, der Blattlausspeichel aber hat — soviel wir wenigstens wissen — dieses Vermögen nicht, wohl aber kommt hier das rasche Vordringen der Borsten und damit des Speichels zur Geltung, so daß die Pflanze nicht rasch genug antworten und sich vorsehen kann. Und überdies, glaube ich, ist die Intensität der Saugwirkung einer Blattlaus viel größer, als die Geschwindigkeit und Größe der Nahrungsentnahme durch den Pilz, dessen Wirkung vor allem durch die ungeheuere Zahl der Hyphen und Haustorien gegeben ist. Bei all diesen Verschiedenheiten ist nun die weitgehende Übereinstimmung in der Reaktion der Pflanzenzelle interessant: Der Zellkern wandert ins erste Treffen und die Pflanze sucht die schädliche Wirkung des Eindringlings durch Zelluloseabscheidung abzuschwächen. Während jedoch v. Guttenberg die Zellulosebildung aus einer Umwandlung der Hautschicht des Protoplasten erklärt, liegt in unserem Falle (für *Rosa*) eine Verwertung vorhandener oder hintransportierter Kohlehydrate vor. Beweisend sind zunächst die Auflösungserscheinungen an den Stärkekörnern. Zusammengesetzte zerfallen, indem sie durch immer tiefer greifende Furchen und Rinnen in ihre Konstituenten zerlegt werden, einfache werden von außen nach innen aufgelöst. Ferner sind die Stärkekörner in den zunächst engagierten bereits mit mächtigen Wandverdickungen versehenen Zellen viel spärlicher und bedeutend kleiner als in den übrigen. Und drittens zeigt uns Figur 14 ein sehr charakteristisches Einwandern von Kohlehydraten nach der Richtung, von der die Gefahr droht. Alle Zellen, die miteinander in direktem Verkehr stehen und auf welche infolge der osmotischen Saugkraft des Speichels der Turgorverlust einwirkt, sammeln ihre Stärkekörner an der Zellwand, wo ihre Anwesenheit am wichtigsten ist. Es ist dabei sehr wahrscheinlich, daß Kohlehydrate in flüssiger Form aus den Nachbarzellen in die direkt betroffenen überwandern und so die Leistungsfähigkeit der letzteren erhöhen. Obwohl zwei Zellen dieser Kette teilweise plasmolysiert sind, haften die Protoplasten dennoch an den gemeinsamen Wänden fest, so daß die gedachte Stoffwanderung von links nach rechts tatsächlich möglich ist. Da die Stärkekörner sich vor ihrer „Indienststellung“ unmittelbar an den bedrohten Zellwänden ansammeln, ist es auch denkbar, daß die ferner liegenden Zellen lediglich einen Reiz seitens des Speichels empfinden und durch Hintransport von Baumaterial ihrer eigenen Integrität Rechnung zu tragen „bestrebt“ sind. Da für alle die genannten Umbildungen ein diastatisches Ferment notwendig ist, erhebt sich die Frage, woher ein solches stammen sollte. Obwohl es wahrscheinlich ist, daß ein solches Ferment von der Pflanze selbst geliefert oder ad hoc gebildet wird, wäre doch auch der Fall möglich, daß das vom Tiersekret stammende, zum Verständnis der interzellularen Saugung notwendige hydrolytische Enzym zwar die Lösung der Stärke in Zucker in den Zellen besorgt, daß aber die Pflanze dessen Abtransport durch Umwandlung in Zellulose verhindert. Einen Beweis hierfür zu erbringen, hält schwer. Anscheinend vermögen nur augenblicklich stärkereiche Pflanzen solche Reaktionen zu erzeugen, doch spielen hierbei wohl noch viele andere Momente mit, die wir in der spezifischen Organisation von Tier und Pflanze zu suchen haben werden.

Beweisend für die wiederholt angeführte Giftigkeit des Speichelsekretes halte ich die pathologischen Veränderungen an Zellkern

und Protoplasma, die wir zahllos an *Evonymus* und *Sambucus* zu beobachten Gelegenheit hatten. Schon *Büsgen* spricht, angesichts der Unmöglichkeit, verschiedene Erscheinungen auf andere Weise zu erklären, davon, daß mit dem Saugen gleichzeitig ein Gift in die Pflanze ergossen wird und hält es für möglich, daß der Scheidensubstanz eine solche Wirkung zukommt. Die Menge eines solchen Giftes kann allerdings eine außerordentlich geringe sein, immerhin aber hinreichend, um deutliche Reaktionen in der Pflanze hervorzurufen. Hat doch schon *Coupin*¹⁾ gezeigt, daß höhere Pflanzen auf Gifte reagieren, die ihnen in so geringer Menge zur Verfügung standen, daß sie sich durch die chemische Analyse nicht mehr nachweisen ließen, und vielleicht eine noch höhere Empfindlichkeit zeigen als niedere Pflanzen.

Auf die Frage: Ist sonach die Pflanze imstande, durch die hier namhaft gemachten Reaktionen sich tatsächlich gegen die Gefahr einer völligen Aussaugung zu schützen? müssen wir wohl mit Nein antworten. Auch die Kappen, die ja nicht alleiniges Werk der Pflanzenzelle sind, vermögen nicht den Tieren die Entnahme von Säften zu erschweren. Denn wenngleich in Figur 4 die Plasmolyse der beiden Zellen eine schwache ist, zeigt Figur 8 deutlich, daß die Aussaugung der Zellen trotzdem genau so energisch vor sich geht, wie wenn lediglich ein dünnes Protoplasmahäutchen vorliegen würde. Es sind die Kappen rein pathologische Veränderungen, die wir nicht auf Zweck- oder Unzweckmäßigkeit prüfen dürfen. Aber auch die Hoffnung, daß die mächtigen Zellulosescheiden von *Rosa* ein wirksames Schutzmittel abgeben würden, erfüllt sich nicht. Ich habe nirgends den Eindruck gewinnen können, daß infolgedessen die reaktiven Zellen von der Plasmolyse verschont worden wären, Plasmolyse tritt ebenso auf, durch das stärkste Zellulosepolster hindurch vermag das Tier trotz „verzweifelter Gegenwehr“ seitens der Pflanze sein Ziel, eine möglichst gründliche Ausnutzung der Pflanzensäfte, zu erreichen²⁾. Wenn *Börner*³⁾ behauptet, daß das im Speichelsekret der Gallenläuse vorhandene Enzym die gereizten Zellen der Pflanze nicht abtötet und daß die Gallenbildung von einer ganz bestimmten Wechselwirkung zwischen dem Speichelsekret und dem Zellsaft der Wirtspflanze abhängig ist, so glaube ich dennoch, daß bei den Blattläusen die den Stichkanal begleitenden Zellen zumteil getötet werden und daß erst in größerer Entfernung ein solches Gift in seiner Wirkung zum Anreger pathologischen Wachstums abgeschwächt werden dürfte. Als wichtigste Feststellung aus allen diesen Tatsachen ergibt sich für unsere Blattläuse, daß die Pflanzen den

¹⁾ *Coupin, H.*, Sur la sensibilité des végétaux supérieurs à des doses très faibles de substances toxiques. (Compt. rend. 1901. I. p. 645; Ref. Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1902.)

²⁾ Dieser negative Erfolg steht in Einklang mit den Anschauungen, die *Heikertinger*, Gibt es natürliche Schutzmittel der Rinden unserer Holzgewächse gegen Tierfraß? (Naturw. Zeitschr. f. Forst- u. Landwirtsch. 1914. p. 97) auf verwandtem Gebiete bringt. Gerade die Blattläuse sind weitgehende „Spezialisten“, die in ihrer inneren Organisation den speziellen Nährpflanzen besonders gut angepaßt sein werden, so daß eine wirksame Gegenwehr seitens der Pflanzen nicht zu denken ist. Wir haben ja auch schon bei *Evonymus* gesehen, daß die dicken Cuticularschichten der Epidermiszellen den Eintritt zwar erschweren, keineswegs aber unmöglich machen, und werden auch noch in späteren Kapiteln Gelegenheit finden, die zweifellos überschätzte Rolle der „Schutzmittel“ zu beleuchten.

³⁾ *Börner*, Die Blattläuse. (Sorauers Handb. d. Pflanzenkrankh. 3. Aufl. Bd. 3.)

Stichen gegenüber verschieden empfindlich und verschieden reaktiv sind. Einen geringen Grad von Empfindlichkeit scheint *Artemisia* zu haben, während die anderen von mir beobachteten Pflanzen anscheinend viel mehr unter Blattlausbefall zu leiden haben. *Artemisia* reagiert aber auch zugleich viel schwächer als andere Pflanzen mit lebhaften zytologischen Reaktionen¹⁾, die ihr Maximum wohl in den Gallenbildungen erreichen. Es scheint mithin eine gewisse Parallele zwischen Empfindlichkeit und Reizbarkeit zu obwalten, eine Auffassung, die im wesentlichen mit dem übereinstimmt, was Petri²⁾ über den Grad der Reblausresistenz bei verschiedenen Weinstöcken geäußert hat. Es vermag die chemische Natur der Pflanzensäfte wohl einen Widerstandsgrad gegen Reblaus zu kennzeichnen, doch ändert sie sich nach Klima und Boden. Dagegen bedingen die spezifischen Eigenschaften der Reizbarkeit und der Reaktion des Zytoplasmas, wenn hinreichend vorhanden, einen hohen Grad von Resistenz, wie auch immer die chemische Zusammensetzung der Säfte sich ändern mag. In der Regel entspricht ein geringerer Grad von Empfindlichkeit einer schwachen Reizbarkeit des Gewebes, welches keine starken Zellproliferationen zeigt. Diese zwei Faktoren treten nach Petri nicht immer für sich auf und es ist oft schwer, das Endergebnis mehr dem einen oder dem anderen Faktor zuzuschreiben.

Weitere Untersuchungen in dieser Richtung sind dringend notwendig und werden den Beobachtungen in der Natur stets genaue zytologisch-anatomische Untersuchungen folgen müssen. Ob und inwieweit die verschiedene Qualität der Speichelsekrete verschiedener Blattläuse, woran wir jedenfalls festhalten müssen, das Bild verändert, ist schwer zu entscheiden, denn alle Erscheinungen, die uns das Mikroskop zeigt, repräsentieren sich als Doppelwirkungen, teilweise tierischer, teilweise pflanzlicher Natur. Börner³⁾ zieht aus einer Serie von *Picea*-Deformationen durch den Stich von *Chermes*-Läusen allerdings den Schluß, daß es weniger auf die Intensität des Lausstiches als auf die Empfindlichkeit des Pflanzengewebes ankommt, ob dieses Wucherungen bildet oder nicht, doch bedarf diese Auffassung weiterer Belege. Vor allem wird es notwendig sein, den Einfluß von Läusen, die auf verschiedenen Wirtspflanzen vorkommen, zu vergleichen, und dann werden wir auch Pflanzen heranziehen müssen, auf denen verschiedene Läuse leben. Erst dann wird es möglich sein, die Leistungen von Pflanze und Tier mit einiger Genauigkeit auseinanderzuhalten⁴⁾.

¹⁾ Über Reaktionsfähigkeit vgl. auch E. Küster, Pathologische Pflanzenanatomie. Jena 1903. p. 293 ff.

²⁾ Petri, L., Ricerche istologiche sulle radici di diversi vitigni in rapporto al grado di resistenza alla fillossera. (Rend. accad. dei Lincei. 19. 1. Sem. Roma 1910; Referat: Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1911.)

³⁾ Börner, C., Eine monographische Studie der Chermiden. (Arb. a. a. Kaiserl. Biol. Anst. 1908.)

⁴⁾ In diesem Zusammenhange möchte ich wohl darauf hinweisen, daß wir mit Heikertinger (l. c.) keineswegs so weit gehen dürfen, zu behaupten, weil wirksame Schutzmittel in den meisten Fällen fehlen, so unterbleibe auch eine Reaktion, ein Abwehrversuch seitens der befallenen Pflanze. Ganz im Gegenteil: die Pflanze empfindet den Parasiten als Fremdkörper, den sie ausschalten will und antwortet auf seinen Eingriff vor allem mit Zelluloseanlagerungen, um dadurch dessen Wirkung womöglich auszuschalten. Wenn nun der Parasit trotzdem sein Ziel erreicht, so liegt der Grund dafür in seiner spezifischen Anpassung an die für ihn besonders geeignete Wirtspflanze. Das Fehlen eines wirksamen Schutzes liegt daher nicht in einer mangelhaften Reaktivität des Wirtes, sondern einer spezifizierten, gesteigerten Aktivität des Parasiten begründet.

Die chemische Reizbarkeit als Ursache der Gallenbildung stellt Molliard¹⁾ nun in Abrede und kommt auf Grund von Stickstoffbestimmungen zur Auffassung, daß ein eiweißverdauendes Ferment maßgebend sei. Einer ähnlichen Unabhängigkeit von der Natur des Wirtes und des Parasiten redet er auch an anderer Stelle²⁾ das Wort: „En résumé les phénomènes présentés par les cellules attaquées par différents parasites animaux ou végétaux, lorsqu'ils se traduisent par une hypertrophie, ne dépendent ni de la nature des cellules ni de celles des parasites; ils se résument en un accroissement d'activité du cytoplasma et du noyau, et sont ceux que l'on rencontre dans toutes les cellules présentant, pour des causes normales ou anormales, cet accroissement d'activité: une hypertrophie du cytoplasma et du noyau, près des modifications subies par ce dernier et qui se rapportent à sa dégénérescence et à sa disparition complète.“

Eine ebenso offene Frage ist es heute noch, welchen Zusammenhang die Migration der Aphiden mit der inneren Organisation der Pflanzen bzw. mit der Wechselwirkung zwischen Wirt und Parasiten hat. Nach A. Mordwilko³⁾ werden derartige Wanderungen dadurch hervorgerufen, „daß die Ernährungsbedingungen auf einem bestimmten Gewächs oder auf einem Teil desselben sich aus irgendeinem Grunde verschlimmert haben, so z. B., daß die Pflanzenläuse sich an dem betreffenden Orte stark vermehrt haben oder daß die Gewächse infolge irgendwelcher Umstände zu welken begonnen haben und dergleichen mehr“. Mordwilko hält für Wanderungen besonders geeignet polyphage Arten, welche von Anfang an sowohl auf holzartigen als auch krautartigen Pflanzen leben und sich vermehren konnten, also auf Gewächsen mit sehr verschiedenartigen Schwankungen bezüglich der Ernährung für die Läuse. Über einzelne Momente solcher Verschiedenheiten sagt er⁴⁾: „Die diesbezüglichen Unterschiede können sowohl die Qualität der Nahrung, die Leichtigkeit, mit welcher der Saugapparat in das Gewebe der Pflanzen eindringen kann, die Beschaffenheit der Oberfläche, auf welcher die Läuse sitzen und dergleichen mehr betreffen; man wird unschwer einsehen können, daß eine und dieselbe Organisation diesen oder jenen Existenzbedingungen nicht in gleichem Maße gut angepaßt sein kann.“ So plausibel alle diese Erwägungen sein mögen, so bedürfen sie doch einer genauen Prüfung seitens der Botaniker, denn erst dann, wenn wir einen klaren Einblick in die mannigfaltigen Wechselbeziehungen zwischen Pflanzen und Läusen haben werden, werden wir daran gehen können, die Frage nach den inneren Ursachen der Migration der Lösung näher zu bringen.

Vor Abschluß dieses Kapitels sei, ohne schon dem nächsten vorgreifen zu wollen, noch einer Erscheinung gedacht, die wir wohl ebenfalls in die Kategorie der Reaktionen werden stellen dürfen. Bei Evonymus sah ich an einer Reihe von Zellen, die innerhalb des Wirkungskreises des Speichelsekretes lagen, eigentümliche Veränderungen (Textfig. 6). In der dem Einstich zunächst liegenden mit I bezeichneten Zelle tritt in einer breiten Zone, dem Stiche zugewendet, eine Anhäufung kleiner, mit Safranin intensiv färb-

¹⁾ Molliard, M., Remarques physiologiques relatives au déterminisme des galls. (Bull. de la Soc. Biol. de France. T. 57. 1910. p. 24; Referat: Hollrung, Jahresbericht 1910.)

²⁾ Molliard, M., Hypertrophie pathologique des cellules végétales. (Rev. génér. de Botan. T. 9. 1897. p. 33.)

³⁾ Mordwilko, A., Beiträge zur Biologie der Pflanzenläuse, Aphididae. (Biol. Centralbl. Bd. 27. 1907. p. 529, 561, 747, 769 ff.; Bd. 29. 1909. p. 82, 97, 147, 164 ff.)

⁴⁾ Mordwilko, A., l. c. 1909. p. 108.

barer Körnchen (k) auf. Der Protoplast ist im Zentrum der Zelle teilweise eingezeichnet. Die beiden anderen Zellen II und III haben einen analogen Körnchenbelag an der dem Beschauer zugewendeten Wand. Eine Durchbohrung dieser Beläge seitens der Borsten habe ich nirgends gesehen, die bezüglichlichen Zellen sind hinter denselben durchbohrt worden. Der Belag erweist sich, wie sein tinktoriell Verhalten und die Fällung mit Kaliumbichromat an ähnlichen anderen Schnitten von *Evonymus* zeigte, als lokale Anhäufung von Gerbstoff, dessen Orientierung uns außerhalb des Protoplasten vorläufig rätselhaft ist, obwohl es andererseits verständlich, wäre, daß er hauptsächlich an der Seite der Zelle angereichert worden sein möchte, welche zuerst einen Reiz seitens des Speichelsekretes erfahren haben wird.

Instruktiver aber sind die Bilder, bei denen keine Zelldurchbohrung stattfindet, sondern auf interzellularem Wege eine Aussaugung angestrebt wird (Fig. 10). Die Zellen sind vollständig intakt geblieben, die Gerbstoffansammlung ist keiner Störung ausgesetzt. Zweimal hat das Tier, wie wir hier sehen, vorzudringen versucht und dann die Stelle endgültig verlassen. Alle Zellen im unmittelbaren Umkreise der Stiche und nur diese, haben reiche Gerbstoffmengen gespeichert und auffallenderweise ist in allen eine Plasmolyse völlig unterblieben. Die Pflanze hat also durch Gerbstoffanreicherung hier tatsächlich die interzellulare Aussaugung dieser Zellen verhindert. Wir dürfen wohl mit Jost¹⁾ annehmen, daß der von der Pflanze hintransportierte Gerbstoff ein vom Speichelsekret stammendes diastaseartiges Ferment durch Fällung unwirksam gemacht hat, so daß jeder weitere Versuch des Tieres, auf interzellularem Wege die Zellen auszusaugen, erfolglos geblieben sein möchte. Wenn diese Schluß-

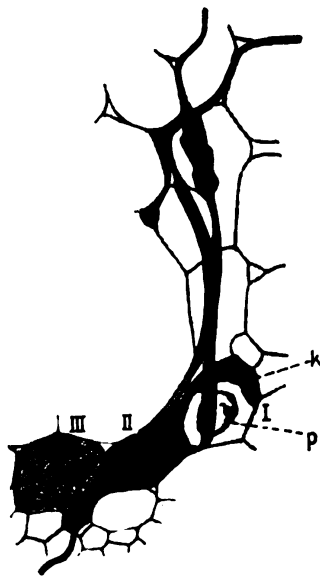


Fig. 6.

folgerung richtig ist, dann würde diese Erscheinung aufs neue bekräftigen, daß die Tiere bei interzellularem Stichverlauf nur mit Hilfe des Speichels und eines in ihm vorhandenen einen osmotischen Saugstrom erzeugenden Enzyms imstande sind, den Zellen Substanzen zu entnehmen.

Daß sich in der Umgebung der Stiche der Pflanzenläuse Gerbstoff ansammelt, hat bereits Petri²⁾ für die Reblaus gefunden. Als erste, wichtigste Veränderung in den Geweben nach einem Reblausstich hatte sich Anhäufung großer Mengen von Gerbstoff und löslichen Kohlehydraten anstelle der rasch aufgelösten Stärke nachweisen lassen. Wir müssen demnach mit Büsgen³⁾ annehmen, daß die Pflanze imstande ist, den Gerbstoff, den Büsgen als ein äußerst wirksames Mittel gegen Tierfraß betrachtet, von einem Orte, wo seine Funktion augenblicklich überflüssig ist, nach solchem zu transportieren, wo seine Anwesenheit momentan notwendig ist; „es wäre das ein Zug von Sparsamkeit der Pflanze, welche dem Physiologen ja oft genug

¹⁾ Jost, Vorlesungen über Pflanzenphysiologie. Jena 1904. p. 198.

²⁾ Petri, L., Wurzelfäule usw., l. c. p. 28.

³⁾ Büsgen, M., Beobachtungen über das Verhalten des Gerbstoffes. (l. c. p. 29 ff.)

entgegentritt“ oder aber der Gerbstoff wird unmittelbar aus Kohlehydraten (Zucker) gebildet, wodurch sofort ein Mittel geschaffen wäre, ein stärkeverzuckerndes Ferment unwirksam zu machen. Ein Gerbstofftransport ist bei dem Reichtum an Gerbstoff in der Rinde von *Evonymus* zwar wahrscheinlicher, doch müßte erst der Nachweis erbracht werden, daß beide Gerbstoffe identisch sind, wogegen allerdings die folgenden Tatsachen sprechen.

Der Gerbstoff und seine Rolle.

Die Verteilung des Gerbstoffes, dessen wir schon bei den Epidermiszellen und im vorigen Kapitel gedachten, ist in unseren Pflanzen eine wechselnde, in den meisten Fällen nimmt der Gerbstoffgehalt von der Epidermis gegen die tieferliegenden Schichten der Rinde zu ab. Über seine Verteilung in den Blättern von *Evonymus (radicans)* hat bereits Büsgen¹⁾ berichtet. In den Stengeln herrscht trotz der allgemeinen Tendenz einer Gerbstoffabnahme gegen das Zentrum zu ziemliche Unregelmäßigkeit und sind, von spezifischen Gerbstoffbehältern abgesehen, Zellgruppen mit reichlichem Gerbstoff²⁾ in tanninarmes Gewebe der Rinde eingestreut. Charakteristisch ist seine Verteilung in *Ribes*-Stengeln und Blättern. Stets sind es scharf umschriebene Gruppen von Zellen, die reichlich Gerbstoff führen. Die Gefäßbündel, namentlich der Blätter, sind — und dies besonders deutlich in der Jugend — von einem förmlichen Gerbstoffwall umgeben. Tannin findet sich ferner in zahlreichen Zellen des Markes und in besonders reicher Menge in der Epidermis, in welcher Hinsicht wiederum die jungen Stengel und Blätter am meisten hervorstechen. *Sambucus* führt die bekannten braunen Gerbstoffschläuche an der Grenze zwischen Gefäßbündelring und Rinde. Mit der Verteilung des Gerbstoffes in den Blattlausgallen beschäftigt sich Küstenmacher³⁾. Zunächst ist die Gallenepidermis am gerbstoffreichsten. Häufig ziehen sich von der Epidermis tanninreiche Zellbrücken zu den die Gefäßbündel umgebenden Gerbstoffschläuchen. Bei *Schizoneura compressa* ist die Gerbstoffreaktion eine ganz allmähliche, bei *Tetraneura ulmi* sind die Schläuche der Gefäßbündel, wie zu diesen parallele Zellreihen oder solche Brücken zur äußeren Epidermis tanninhaltig. *Aphis oxyacanthae* führt in seinen Gallen reichlich Gerbstoff in der oberen Epidermis, in den unteren Schichten bis zu den im Kreise um die Spiralgefäße angeordneten Gerbstoffschläuchen und schließlich in der zweiten und dritten Zellreihe von der unteren Nährepidermis. Relativ gering ist derselbe bei den Gallen von *Aphis pisi*.

In Ergänzung zu den oben angeführten Fällen wahrscheinlich aktiven Gerbstofftransportes seitens der Pflanze erwähne ich das häufige Auftreten von Gerbstoffkugeln in den Nachbarzellen der Blattlausstiche auf *Prunus padus*, ferner, daß auch Hartwich⁴⁾ in der Nahrungsschicht der Infectoriagalle in jeder Zelle eine Gerbstoffkugel fand; waren deren mehrere beisammen, so waren sie gegeneinander abgeplattet. Auch in den Kristallbehältern der Rinde von *Evonymus* habe ich oft zahlreiche Gerb-

¹⁾ Büsgen, M., Beobachtungen über das Verhalten des Gerbstoffes usw. (l. c. p. 29 ff.)

²⁾ Der Begriff „Gerbstoff“ ist hier wie überall in meiner Abhandlung im weitesten Sinne zu fassen.

³⁾ Küstenmacher, Beiträge zur Kenntnis der Gallenbildungen mit Berücksichtigung des Gerbstoffes. (Jahrb. f. wiss. Botan. Bd. 26. 1894. p. 82.)

⁴⁾ Hartwich, C., Über Gerbstoffkugeln und Ligninkörper in der Nahrungsschicht der Infectoria-Galle. (Ber. d. deutsch. bot. Gesellsch. Bd. 3. 1885. p. 146.)

stofftropfen gefunden (Fig. 23), Hartwich analoge Erscheinungen in Infectoriagallen.

Genauere Untersuchungen hat Petri¹⁾ über die Frage angestellt, ob der Gerbstoff für die Pflanzenläuse eine bestimmte Bedeutung habe. Nach einer Diskussion über die Verteilung des Gerbstoffes zu verschiedenen Jahreszeiten folgert Petri aus chemischen Analysen, daß es hauptsächlich auf die Natur des Gerbstoffes ankommt, wenn die einzelnen Organe ein verschiedenes Verhalten gegen Schmarotzer bekunden. Es fand sich hierbei ein Gerbstoff, der isoliert mit Formol keinen Niederschlag gibt. Die Gerbstoffe, welche einen Niederschlag geben, sind nur selten in einer Schleimsubstanz enthalten, letztere imbibiert dieselben, sobald sie mit Wasser in Berührung kommt. Dieser Gerbstoff würde gewissermaßen in den Wurzeln und in den Blättern der Rebe in Beziehung stehen zur Rezeptivität der Organe für die Reblaus. Solche Feststellungen fehlen zwar zurzeit für andere Läuse noch. Doch kann ich auf Grund cytologischer Befunde die Frage, ob dem Gerbstoff die von Büsgen und Stahl geforderte Bedeutung unter allen Umständen zukommt, teilweise beantworten. Wir haben bisher zwei einander widersprechende Fälle kennen gelernt. Einmal zeigte sich, daß der Gerbstoff in den Epidermiszellen kein absolutes Hindernis für die Blattläuse darstellt, dieselben auszusaugen. Und dann wiederum lehrte uns die zuletzt besprochene Reaktion, daß der in der Umgebung der Stichkanäle lokal auftretende Gerbstoff tatsächlich ein Weiterdringen der Borstenbündel und vor allem eine drohende Plasmolyse der betroffenen Zellen verhindert hatte. Von Wichtigkeit war mir ferner die Entscheidung, ob, wie Büsgen will, die Gerbstoffschläuche von *Sambucus* ängstlich gemieden werden oder nicht. Ein bloßes Umgehen und Nichtdurchbohren bietet, wie wir wissen, keinen Anhaltspunkt dafür, ob die Tiere ihnen nicht doch Substanzen entnommen haben, sie also nicht gemieden haben.

Ich habe nun für *Sambucus* und *Ribes* Bilder gesehen, die geeignet sind, die dem Gerbstoff bisher zugesprochene universelle Bedeutung als Schutzmittel gegen Tierangriffe zu widerlegen²⁾. Bei *Sambucus* zeigte sich wiederholt, daß die Borsten in die Gerbstoffschläuche eindringen, wobei intrazellulär Sekret ausgeschieden wurde, das sich in den äußeren Schichten mit Gerbstoff behud. Zuweilen drangen die Borsten auch in den Schläuchen eine Strecke weit vor. Ob die Tiere diesen Schläuchen Substanzen entnehmen oder nicht, ist für unsere Frage zunächst gleichgültig. Der Gerbstoff wird jedenfalls in vielen Fällen nicht gemieden und bildet kein *noli tangere* für die Blattläuse. Besonders hinweisen möchte ich hier auf die auf *Ribes* bezügliche Fig. 20.

¹⁾ Petri, L., Ricerche sulle sostanze tanniche delle radici nel genere *Vitis* in rapporto alla fillosseronosi. (Rend. Acc. d. Lincei. 20. 1. Sem. 1911; Referat: Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1912. p. 212.)

²⁾ Allerdings hat Büsgen den Nachweis zu erbringen versucht, daß die Gerbsäure von den Tieren gemieden werde. Doch entspricht die Versuchsanstellung kaum den Verhältnissen, welche die Tiere in den Pflanzen finden. In starker Gerbsäurelösung gekochte Blätter dürften meines Erachtens auch oberflächlich und in allen Zellwänden so sehr mit Gerbstoff imprägniert worden sein, daß schon ein Betasten der Blätter in den Tieren eine unangenehme Geschmacksempfindung hervorgerufen haben dürfte. Überdies fehlte wohl auch solchen Blättern der Reiz frischer Nahrung.

Wir sehen hier einen interzellularen Stichverlauf, der auf seinem Wege drei Gerbstoffbehälter berührt und alle drei teilweise aussaugt, wie die Plasmolyse in der Richtung zum Stichkanal erkennen läßt. Die Tiere haben also keinen Anstand genommen, auch solchen Zellen Substanzen zu entnehmen, der Grad der Plasmolyse ist kaum geringer als in gewöhnlichen Rindenparenchymzellen. Der in solchen Zellen vorhandene Gerbstoff ist kein Augenblicksprodukt, nicht erst unmittelbar als Reaktion auf den Blattlausstich aufgetreten, sondern ein Exkret zahlreicher Rindenzellen, deren einzelne zufällig in den Bereich der Saugwirkung gekommen waren¹⁾. Wir dürfen daraus mithin wohl den wichtigen Schluß ziehen, daß die Rolle des Gerbstoffes bisher vielfach überschätzt wurde, dürfen aber andererseits nicht verkennen, daß er unter Umständen im Dienste einer Reaktion der lebenden Pflanzenzelle eine wichtige Rolle spielen dürfte. Und obwohl noch genauere chemische Untersuchungen fehlen, gewinnt bereits jetzt die Auffassung Petris an Wahrscheinlichkeit, daß es nicht bloß auf das Vorhandensein des Gerbstoffes an und für sich, sondern vor allem seine Natur ankommt, wenn er in einem Falle die Rolle eines Abwehrmittels spielte, in einem anderen dagegen auf das einstechende Tier gar keinen Einfluß auszuüben vermochte. Weitere Untersuchungen solcher Fragen sind unerläßlich.

Ungeklärt ist aber auch noch das eigentliche Wesen der Einwirkung eines den Tieren gegenüber aktiven Gerbstoffes. Wenn wir oben die Vermutung ausgesprochen haben, daß er die Fällung eines Ferments bewirkt hätte, so liegt darin kein Beweisverfahren, sondern lediglich ein plausibler Analogieschluß zu den Beobachtungen Josts an verschiedenen Blättern vor, da auch dem Speichelsekret ein diastaseartiges Ferment zugesprochen werden mußte. Warming²⁾ erblickt seine Rolle darin, daß er die Austrocknung von Pflanzenteilen verhindere oder verzögere, eine Auffassung, die ebenfalls manches für sich hat, da ja der Säfteverlust lausbefallener Pflanzen ein ganz enormer ist.

Kristallbehälter.

Eine eigentümliche, vorläufig noch unklare Rolle spielen die Zellen des Rindenparenchyms von *Evonymus*, in denen Drüsen von oxalsaurem Kalke auftraten. Es drängt sich bei Durchmusterung der Serienschritte die Auffassung auf, daß solche Zellen von den Tieren mit besonderer Vorliebe aufgesucht werden. Die nebenstehende Textfigur zeigt, daß ein Tier auf zwei Hauptstichen einer Gruppe von zwei Drüsenbehältern zustrebt, wobei der eine Stich, die vorgelagerte Parenchymzelle durchquerend, direkt in die zweite kristallführende Zelle eindringt, während der zweite, eine Zellschicht von den beiden Drüsen entfernt, zunächst drei Äste bildet, deren einer direkt in die nächstliegende Drüsenzelle eindringt, der zweite,

¹⁾ Es ist sogar möglich, daß Gerbsäure in geringen Mengen von den Tieren aufgenommen wird, daß also auch bei den Blattläusen ein ähnliches bescheidenes Bedürfnis obwaltet, wie es von A. Rüber, „Die natürlichen Schutzmittel der Rinden unserer einheimischen Holzgewächse gegen Beschädigungen durch die im Walde lebenden Säugetiere“ (Jen. Zeitschr. f. Naturw. Bd. 46. 1910) für verschiedene Wildarten (Elche, Biber, Kaninchen, Rotwild) festgestellt worden ist und worauf auch Heikertinger Bezug nimmt.

²⁾ Warming, Beobachtungen über Pflanzen mit überwinternden Laubblättern. (Botan. Centralbl. Bd. 4. 1883. p. 350.)

die nebenliegende Zelle durchbohrend, ebenfalls in die erste Drüsenzelle gelangt, der dritte, durch die genannte Zelle, die nunmehr ein viertesmal durchbohrt wird, hin durch sich der zweiten Drüsenzelle zuwendet; innerhalb der Zellen wird reichlich Speichel abgesondert, der sich enge an den Kristall anlegt und denselben von mehreren Seiten umgibt, hierbei dessen Konturen nachahmend. In anderen Fällen drangen die Stiche zwar nicht in diese Zellen ein, wohl aber verzweigten sie sich häufig vor ihnen und umklammerten sie im weiteren Verlaufe förmlich von zwei Seiten.

Die Rolle der Kristallbehälter, die, wie ich glaube, aus ihrem Verhalten zu den Blattläusen dereinst wichtige Aufschlüsse über ihre physiologische Bedeutung in der gesunden Pflanze zu geben berufen sein dürften, ist hiermit noch nicht erschöpft. Das Phänomen der Kappenbildung, das wir bei den Blattlausstichen bereits studiert haben, findet sich unvermutet bei den Kristallbehältern wieder und zwar sind es weniger die Drüsenzellen selbst als vielmehr die Nachbarzellen, welche hiervon betroffen werden. In einem Falle sah ich den Blattlausstich interzellulär zwischen zwei solchen



Fig. 7.

Kristallbehältern durchziehen, und während im Zellsaft der Drüsenzelle die schon einmal erwähnten Gerbstoffkugeln (Fig. 23) aufgetreten waren, zeigten die unmittelbar den Kristallbehältern folgenden Nachbarzellen Plasmaanhäufungen an der den Drüsenzellen zugekehrten Wand, in einer dieser Nachbarzellen war auch der Zellkern auf diese Seite gewandert. Kappenbildungen in den Kristallbehältern fanden sich vereinzelt ebenfalls, nur waren sie dann meist von der Wand entfernt und legten sich enge um den Kristall. Sehr instruktiv ist Fig. 7: Der in Rede stehende Kristallbehälter befand sich unweit eines Stichkanales und hatte auf drei Nachbarzellen seinen Einfluß geltend gemacht. Zwei derselben zeigen unmittelbar an der Drüsenzelle zu Kappen umgewandelte

Plasmaanhäufungen, während eine dritte Zelle eben im Begriffe steht, den Kern dorthin zu dirigieren, der indessen bereits deutliche Zeichen der Veränderung und des Absterbens zeigt. Als letzte Erscheinung an solchen Kristallzellen erwähne ich die Anhäufung von Gerbstoff um die Druse, während letztere sich allem Anscheine nach im Begriffe der Auflösung befindet (Fig. 23).

Die Frage ist nun die, was für eine Bewandnis hat es mit all diesen Erscheinungen? Soweit ich gegenwärtig das Phänomen zu beurteilen vermag, glaube ich, daß zwei voneinander wohl zu trennende Tatsachen vorliegen. Das auffallende Bemühen der Blattläuse um die Kristallbehälter ist schwer verständlich, da es sich um inhaltsarme Zellen handelt, deren Zellsaft den Tieren kaum Wertvolles zu bieten vermag. Einen direkten Angriff der Blattläuse auf die Kristalle halte ich für unwahrscheinlich, da wir dem Speichelsekret chemische Qualitäten zusprechen müßten, für deren Vorhandensein absolut jeglicher Beweis fehlt. Ich halte das aktive Aufsuchen der Kristallbehälter eher für eine Folgeerscheinung, der eine Auflösung der Kristalle und Reaktivierung der Oxalsäure vorangehen dürfte. Wir dürfen

nicht vergessen, daß das Saugphänomen einen kolossalen Turgorsturz im Pflanzengewebe zur Folge hat und daß die Pflanze nicht imstande ist, durch hinreichend raschen Nachtransport von Wasser und Turgorsteigernde Substanzen dieses Defizit wettzumachen. Und da ist es mit J o s t ¹⁾ sehr wahrscheinlich, daß die in der Pflanze zunächst als Abfallsprodukt des Stoffwechsels wertlos gewordene Oxalsäure wieder in den Stoffwechsel einbezieht. „Es mögen durch den abbauenden Stoffwechsel Produkte in der Pflanze entstehen, die nur ökologischen Zwecken dienen, und es kann sogar sehr wohl sein, daß gerade organische Säuren ganz allgemein in ähnlicher Weise regulatorisch, d. h. bis zu einem gewissen Grenzwerte gebildet werden, etwa um die Turgeszenz der Zellen zu ermöglichen. Es ist ja die Bildung z. B. der Oxalsäure aus Glukose ein bequemes Mittel, um den osmotischen Druck einer Zelle auf dreifache Höhe zu bringen.“ Daß Kalkoxalat trotz der Schwerlöslichkeit wieder in den Stoffwechsel einbezogen wird, ist von einer Reihe von Forschern bestätigt worden²⁾. Auch bei P e t r i ³⁾ finden wir einen bezüglichen Hinweis: „Soviel ich nach dem mikrochemischen Verhalten beurteilen konnte, gerinnt der Pektinstoff dieses Schleimes unter dem Einfluß eines hinströmenden Kalksalzes, wahrscheinlich des apfelsauren Kalkes, welcher aus der Apfelsäure der absterbenden Zellen und dem Kalke des Kalziumoxalats entsteht. Eine Folge davon ist, daß nach der Gelatinierung des Pektinschleimes die Raphiden aufgelöst werden.“ Ehe wir einen Versuch machen, für unsere Beobachtungen eine Erklärung zu geben, seien noch die bezüglichen Beobachtungen K ü s t e n m a c h e r s ⁴⁾ gestreift. Er stellte fest, daß die freie Oxalsäure bei Einwirkung auf Zellulose unter Sauerstoffaufnahme Traubenzucker bildet, ebenso wie sie auch mit einem Zwischenprodukte zwischen Zellulose und Traubenzucker, dem Rohrzucker, Traubenzucker gibt. Die Oxalsäure selbst wird dabei zu Kohlensäure umgewandelt. Ebenso wie der Zellulose ergeht es der Stärke und besonders in den Chermes abietis-Gallen kann man häufig die nach der Nährepiidermis hin in den einzelnen Zellen zunehmende Lösung der Stärkekörner in dem sauren Zellsaft wahrnehmen. Die Stärkekörner sind dann mehr oder weniger von einer dickflüssigen Schicht umlagert, welche noch gerbstoffhaltig ist.

Nach diesen Betrachtungen drängen die an den Blattläusen beobachteten Tatsachen zu folgender Erklärung: Auf eine noch näher festzustellende Weise werden die Kalkoxalatkristalle aufgelöst; die Oxalsäure wirkt zunächst auf die Zellen der unmittelbaren Umgebung und allem Anscheine nach vor allem in ganz bestimmter Richtung, eben jener, in welcher durch die Saugtätigkeit der Läuse der Turgor am meisten gefallen war, der Plasmolyse entgegen. Die einzelnen Zellen, vor allem die der unmittelbaren Umgebung werden die austretende Oxalsäure als Gift empfinden, auf welchen Reiz sie ähnlich wie dem Blattlausspeichel gegenüber antworten, jedoch zum Teil getötet und desorganisiert werden. Nur so sind die Fig. 7 wiedergegebenen Bilder, bei denen die Nachbarzellen deutlich auf einen vom Kristallbehälter ausstrahlenden Reiz giftiger Natur reagieren, zu verstehen. Eine ähnliche Reaktion des Protoplasten und des Zellkernes auf Gifte, schließt deren Ver-

¹⁾ J o s t, Vorlesungen über Pflanzenphysiologie. Jena 1904. p. 241.

²⁾ Siehe H a b e r l a n d t, G., Physiologische Pflanzenanatomie. 4. Aufl. p. 482 u. dort die weiteren Literaturangaben.

³⁾ P e t r i, L., Wurzelfäule, l. c.

⁴⁾ K ü s t e n m a c h e r, Beiträge zur Kenntnis der Gallenbildung usw., l. c.

schiedenartigkeit nicht aus. Jedenfalls hätte eine solche Aktion der Pflanze, den Turgor zu retten, das Opfer einzelner Zellen zur Folge. Freilich bedarf ein solcher Erklärungsversuch noch mancher Aufhellungen, denen weitere Beobachtungen und mikrochemische Reaktionen vorangehen müssen. Vielleicht wird hierbei auch das Verhalten der Blattläuse verständlich. Wenn schon nicht reichliche lösliche Kohlehydrate aus der Löslichkeit fester in der Oxalsäure, so mögen doch die wiederhergestellten Druckverhältnisse Anziehungskraft genug besitzen und die Aufmerksamkeit der Tiere auf sich lenken.

Es erhebt sich übrigens die Frage, ob nicht der Säuregehalt der Zellen an und für sich ein Schutzmittel der Pflanzen gegen Läusebefall repräsentiert. Nach Stahl¹⁾ und Giebler²⁾ bietet das Kaliumbioxalat als leicht lösliches Alkalisalz der Oxalsäure einen wirksamen Schutz gegen Tierfraß, und so wie andere Schutzstoffe vornehmlich eine periphere Lage haben, so ist auch dieses Salz in der Epidermis oder doch vorwiegend in den peripheren Geweben der vegetativen Organe lokalisiert. Für die Rebe ist von Aversa-Saccà³⁾ festgestellt worden, daß der Säuregehalt für die Reblausresistenz von Wesenheit sei, weil er die Widerstandskraft erhöht. Den höchsten Säuregehalt zeigen die Amerikaner.

Ebenso wie die Widerstandsfähigkeit gegen Reblaus steigt, wird auch die Resistenz gegen *Oidium*, *Peronospora*, an Haselnußblättern gegen *Erysiphe* und *Phytoptus* erhöht⁴⁾.

Der Gehalt an Oxalsäure ist nun allerdings kein Mittel, um die Blattläuse von den damit ausgestatteten Pflanzen abzuhalten⁵⁾: So findet sich *Aphis* *rumicis* auf den Stengeln und Trieben von *Rumex crispus*, *Aphis acetosae* auf *Rumex conglomeratus*; auf apfelsäurereichen Fettpflanzen: *Sedum maximum* und *album* wohnt *Aphis sedi*. Vielmehr wird es notwendig sein, festzustellen, ob solche Pflanzen dem Läusebefall und dem Verfall besser widerstehen, ob ihre Zellen die Plasmolyse abzuschwächen vermögen werden, ob also die an Reben gefundenen Tatsachen auch für andere Pflanzenläuse gelten.

Nach all der Unklarheit, die heute noch über die Rolle der Säuren herrscht, sind weitere spezielle Untersuchungen dringend notwendig.

¹⁾ Stahl, Pflanzen und Schnecken, I. c.

²⁾ Giebler, R. J., Die Lokalisation der Oxalsäure in der Pflanze. (Jenaer Zeitschr. f. Naturw. 1893.)

³⁾ Aversa-Saccà, R., L'acidità dei suochi nelle viti americane in rapporto alla resistenza di esse alla fillossera, secondo Comes. (Atti Rendic. Istit. d'Incorraggiam. ser. 6. 1910; Ref. Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1912.)

Aversa-Saccà, R., L'acidità dei suochi delle piante in rapporto alla resistenza contro gli attacchi dei parassiti. (Staz. sperim. agr. ital. Vol. 43. 1910; Ref. Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1912.)

⁴⁾ A. Mordwilko hat (Beiträge zur Biologie der Pflanzenläuse, *Aphididae*. Biolog. Centralbl. 1907. p. 757) allerdings gefunden, daß Reblausgallen an den Blättern der europäischen Rebsorten viel spärlicher auftreten als an denen der Amerikaner. Während die Europäer oft nur einige wenige Gallen trugen, kamen diese auf den amerikanischen Reben rasch zur Bildung und zwar in beträchtlicher Anzahl. Auf Amerikanern erreichten die Fundatrices ihre Entwicklung überhaupt in den Gallen einige Tage früher, wobei sie sich gleichzeitig durch größere Reproduktionsfähigkeit auszeichnen als die Fundatrices der Gallen auf europäischen Rebsorten.

⁵⁾ Ob die von P. Doerstling (Auftreten von *Aphis* an Wurzeln von Zuckerrüben, Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1900. p. 21) gemachten Beobachtungen, daß die kleinen Saugwurzeln mit zahlreichen grünen Aphiden besetzt waren und daß im Safte der frischen Schnitte große Mengen freier Säure auftraten, in Zusammenhang standen oder eine Reaktion der Pflanze darstellen, muß dahingestellt bleiben.

Berichte darüber, daß die Läuse ein auffallendes Wahlvermögen zwischen Pflanzenindividuen derselben Art bekunden, liegen vor. So zeigten nach Daniel¹⁾ gewisse Bohnensorten (Soissons, Noir de Belgique), im feuchten Moose aufgezogen, fast gar keinen Läusebefall, und Stift²⁾ fand, daß *Aphis papaveris* in seiner Verbreitung auf ein von ihm kontrolliertes Feld beschränkt blieb, während ein zweites, unmittelbar daneben liegendes Rübenfeld unter gleichen Bodenverhältnissen vollkommen frei davon war. Merkwürdigerweise war die Windrichtung eine derartige, daß die geflügelten Tiere auf dieses zweite hätten getragen werden müssen. Ebenso fehlen diesem Felde jegliche Coccinelliden. Jedenfalls eröffnet sich hier ein weites, fruchtbares Arbeitsgebiet der Wissenschaft, das nicht zuletzt der Erkenntnis physiologischer Vorgänge in gesunden Pflanzen zugute kommen wird.

Öldrüsen.

Meinem Bestreben, Pflanzen mit spezifischen Einrichtungen in den Kreis der Betrachtung zu ziehen, kam das Auftreten der *Siphonophora absinthii* auf *Artemisia absinthium* sehr zustatten. Die Öldrüsen³⁾, die bei *Artemisia* im Marke und in der Rinde auftreten, sind in biologischer Beziehung dahin gedeutet worden⁴⁾, daß ihre Rolle mit Rücksicht auf das häufige Zusammentreten von Gefäßbündeln, resp. Leptomsträngen und Sekretgängen auf ökologischem Gebiete liege: „Da die Sekretgänge häufig Substanzen enthalten, die abgesehen von ihrer Bedeutung als Endprodukte des Stoffwechsels auch als chemische Schutzmittel gegen die Angriffe von Tieren dienen, so werden kleinere in das Innere der Organe eingedrungene Feinde von der Durchschneidung der für das Leben der Pflanzen so wichtigen Stoffleitungsbahnen mehr oder minder wirksam abgehalten werden, wenn sich die letzteren mit einem Wall von Sekretgängen (oder Exkretbehältern) umgeben.“ Eine solche Funktion müßte meines Erachtens in erhöhtem Maße bei den Tieren zur Geltung kommen, die das Pflanzengewebe nicht durchschneiden, sondern mit Saugorganen in das Innere eindringen, und dort, falls ihnen unangenehme Sekrete begegnen, dieselben ängstlich umgehen werden. Ich habe mich daher bemüht, den Verlauf der Stiche in Beziehung zur Lage der Öldrüsen zu studieren. In der Mehrzahl der Fälle ließ sich gar kein Einfluß nachweisen, die Tiere senkten ihre Saugborsten unbekümmert um das Vorhandensein von Sekretbehältern gefäßbündelwärts ein und ließen sich, wie sich zeigte, in der Verfolgung der direkten Richtung in keiner Weise stören. Und während ich also ein Ausweichen vor den Öldrüsen, also einen abstoßenden Einfluß derselben niemals habe beobachten können, sind mir anderseits Bilder untergekommen, die die Vermutung aufkommen lassen, daß die Öldrüsen in manchen Fällen, wenngleich in bescheidenem Maße die Rolle einer Nahrungsquelle für die Tiere spielen. Fig. 24 zeigt, daß ein Stich den Weg direkt durch eine Öldrüse genommen hatte. Er hatte rechts die epithelial angeordneten Sekretzellen auseinandergedrängt, war unter Abscheidung von Speichel-

¹⁾ Daniel, L., Sur la greffe de quelques variétés des Haricots. (Compt. rend. hebdom. de Paris. T. 147. 1908.)

²⁾ Stift, A., Über das Auftreten von Blattläusen auf Zuckerrüben. (Blätter f. Zuckerrübenb. Jg. 14. 1907. p. 292.)

³⁾ Vgl. Haberlandt, G., Physiologische Pflanzenanatomie. 4. Aufl. 1909, p. 471 ff. und de Bary, A., Vergleichende Anatomie der Vegetationsorgane. 1876. p. 210 ff. u. 260 ff.

⁴⁾ Bei G. Haberlandt, l. c. p. 474, dort die weitere Literatur.

sekret in das Drüseninnere eingedrungen und hatte die Drüse an der entgegengesetzten Seite wieder verlassen, jedoch, wie das Aufhören des Stiches zeigt, tiefer liegenden Zellen keine Nahrung mehr entnommen. Wenn wir uns fragen, ob hierbei der Drüse Substanzen entnommen worden seien, müssen wir hinsichtlich des Sekretraumes die Antwort allerdings schuldig bleiben. Die Sekretzellen aber sind teilweise wenigstens plasmolysiert, also von dem Tiere ausgesaugt worden. Überdies ist die Lage der großen Zellkerne der Sekretzellen eine auffallende; soweit dieselben in dem betreffenden Schnitte erhalten waren, lagen sie stets dem außen vorbeiziehenden Speichelsekret zugekehrt und auch eine Sekretzelle der anderen Seite hatte den Kern dem Stichkanal zugewandt, während die Kerne zweier weiterer Zellen auf einen zweiten kürzeren Stich durch aktives Wandern reagiert hatten. Wenngleich die Kerne der Sekretzellen auch häufig dem Drüsenraume zugekehrt liegen, glaube ich doch in dem besprochenen Verhalten eine Reaktion der Pflanze auf eine chemische Beeinflussung seitens des Speichels erblicken zu sollen.

Diese Beobachtung beweist zwar, daß fakultativ eine Ausnutzung der Elemente der Öldrüsen stattfindet, sie sagt aber darüber nichts aus, ob seitens der Drüsen eine Anziehung auf die Tiere ausgeübt wird, ob diese also gegebenenfalls die Drüsen aktiv aufsuchen. Und hierfür verweise ich auf die Fig. 15; die Erscheinung büßt, obwohl nur einmal beobachtet, an Bedeutung in nichts ein. Die Orientierung zur Epidermis ist durch den danebengezeichneten Doppelpfeil gegeben, die Entfernung von derselben natürlich bedeutend größer. Das Tier hatte in der Richtung des kleinen Pfeiles etwas schräg in der Richtung gegen das Leptom eingestochen; anstatt nun aber im Sinne des punktierten Pfeiles direkt in das unmittelbar darunter liegende Gewebe des Siebteiles einzudringen, nimmt der Stich plötzlich eine der Epidermis nahezu parallele Lage ein, gelangt auf interzellularem Wege bis in die Epithelzellen der Drüse und verläuft schließlich in der Richtung zur Epidermis, also zur Einstichstelle zurück bis unmittelbar an den Drüsenraum, vor dem er endet. Die Aufsuchung der Öldrüse seitens des Tieres ist hier also zweifellos eine aktive gewesen. Diese mußte also auf das Tier irgendeine Anziehung ausgeübt haben. Es ist hier überdies wahrscheinlich, daß auch der Drüsenraum tributpflichtig gemacht wurde. Erst ein zweiter Stich, der von dem ersten fast senkrecht abzweigt, führt die Saugborsten ins Leptom. Wir müssen mithin zum Schlusse kommen, daß die Öldrüsen, weit entfernt, eine Hauptnahrungsquelle zu spielen 1. von den Tieren nicht gemieden werden und 2. gegebenenfalls ausgesaugt, ja sogar zuweilen aktiv aufgesucht werden.

Anthokyan.

Anthokyanbildung ist mir an nicht zu Gallen deformierten, von Aphiden bewohnten Pflanzen nicht untergekommen. Demgegenüber stehen die Beobachtungen W. Busses¹⁾ über die Blattlauskrankheit und J. Kochs²⁾ über die Schildläuse. Busse fand, daß die Rötungen hauptsächlich von den Hauptnerven ausgingen, an denen die Blattläuse sitzen und daß die Stomata die Teilzentren der Anthokyanbildung repräsentieren. Von den Spaltöffnungen greift das Phänomen allmählich auf die Nachbarzellen, die Hypodermis und

¹⁾ Busse, W., l. c.

²⁾ Kochs, J., l. c.

das Mesophyll über. Zur Verantwortung zieht B u s s e Verstopfungen der Spaltöffnungen. Anthokyanbildung beobachtete ich an den A p h i s - p i r i - Gallen auf Apfelblättern. Besonders anthokyanreich fand ich das Gewebe der Blattoberseite mit Ausnahme der Epidermis und namentlich die Parenchym-scheide der Gefäßbündel. Einzelne Zellen derselben waren dunkelrot gefärbt. Die auslösende Ursache vermutet B u s s e in einer vereinigten Wirkung des Speichels und der Saftentziehung, während nach L i n s b a u e r ¹⁾, O v e r t o n ²⁾ u. a. der Anthokyanbildung Störungen in der normalen Stoffleitung vorliegen. „Produktion und Stoffleitung stehen in einem ganz ungewöhnlichen Mißverhältnisse zueinander.“ Die Nährstoffansammlung wird durch Zerstörung der Leitungsbahnen und Stauung des Inhaltes zustandekommen, oder ihrerseits das Resultat besonderer Reize darstellen, die nach der Verwundung zustandekommen. M i r a n d e ³⁾ fand bei Untersuchungen an Insekten befallenen Pflanzen, daß die Anthokyanbildung eine Folgewirkung des Insektenstiches darstellt, daß für sie vor allem ausreichende Menge von Licht, Unterbrechung des in der Bast-schicht aufsteigenden Saftstromes, Anhäufung ternärer Substanzen, wie Phloroglucin, Tannin und Glukose in den verletzten Gewebspartien und Gegenwart einer Oxydase notwendig sei.

Jedenfalls bedürfen wir noch weiterer Untersuchungen, die sich auf alle die in Betracht kommenden Faktoren: Stoffleitung, Geschwindigkeitsunterschied im Nachtransport und Stoffverbrauch, Giftwirkungen und Enzyme pflanzlicher wie tierischer Natur werden erstrecken müssen.

Borstenspitze und Sinnesorgane.

Obschon es bisher noch nicht gelungen war, das Vorhandensein von Nervenfasern und Sinnesorganen in den Borsten selbst nachzuweisen, so drängt es mich doch schon jetzt zu dieser Frage Stellung zu nehmen und vorbehaltlich späterer Untersuchungen darauf hinzuweisen, daß nervöse Elemente im Saugapparate sensu strenuo zum vollen Verständnisse der dem Botaniker entgegentretenden Bilder notwendig sind, wenngleich die Zoologen infolge einer — wenigstens soweit die Pflanzen als Wirte in Betracht kommen — völlig unrichtigen Vorstellung vom Saugphänomen, nicht nur nicht darnach fahndeten, sondern sogar die Notwendigkeit spezifischer Apparate in Abrede stellten. Wir wollen zunächst wieder die Zoologen zu Worte kommen lassen und dann diskutieren, inwieweit die von ihnen vertretenen Auffassungen seitens der Botaniker beibehalten werden dürfen. Die auch für später maßgebend gebliebene Grundansicht stammt von B u r m e i s t e r ⁴⁾: „Der Geschmack kann eigentlich nur für solche Tiere von Wichtigkeit sein, welche sich von verschiedenen Substanzen ernähren und diese zerkauen. Dies ist nun bei den saugenden Kerfen nicht der Fall, sie nehmen immer ein und dieselbe Nahrung zu sich, leben meistens auf denjenigen Dingen selbst, aus denen sie ihre Nahrung ziehen, und bedürfen des Geschmackes weniger. Wirklich fehlt ihnen eine fleischige Zunge, die allein schmecken kann, vollkommen,

¹⁾ Linsbauer, L., Einige Bemerkungen über Anthokyanbildung. (Österr. bot. Zeitschr. 1901. p. 1.)

²⁾ Overton, Beobachtungen und Versuche über das Auftreten von Anthokyan bei Pflanzen. (Zeitschr. f. wiss. Bot. Bd. 33. 1899. p. 171.)

³⁾ Mirande, M., Sur l'origine de l'Anthocyamine déduite de l'observation de quelques insectes parasites de feuilles. (Compt. rend. hebdom. de Scienc. Paris 1907; Referat: Hollrung, Jahresber. 1907.)

⁴⁾ Burmeister, Handb. d. Entomologie. I. c. I. p. 322.

und wenn sie als steife Borste vorhanden ist, so darf bei einer solchen wohl nicht vom Geschmack die Rede sein.“

Bekanntlich¹⁾ kommen den Insekten spezielle Nerven zu, welche die Mundteile versorgen. Vom unteren Schlundganglion zweigen vier Nervenpaare ab; das zweite Paar, die Maxillarnerven, gehen zu den Maxillen und deren Tastern, das dritte Paar, die Mandibularnerven, versorgt seinerseits die Mandibeln. Wenn wir nun die in der Literatur zutage getretenen Anschauungen über die bezüglichen Verhältnisse bei den Blattläusen Revue passieren lassen, wird uns ziemliche Mannigfaltigkeit in den Erklärungsversuchen entgegen-treten. Witlaczil²⁾ bespricht die embryonalen Verhältnisse der Mundwerkzeuge und deren Taster. In der Anlage erscheinen die Mandibeln und I. Maxillen mit, die II. Maxillen dagegen ohne Taster vorgebildet: „Die Taster der I. Maxillen legen sich, indem die Mündung der retortenförmigen Organe immer enger wird, mehr und mehr an den Vorderkopf, mit dessen nach innen gelegenen Teilen sie endlich verschmelzen; die II. Maxillen verwachsen bald, ohne Taster angelegt zu haben zur Unterlippe.“ Geise³⁾ sagt mit Beziehung auf das bei allen übrigen Insektenordnungen konstante Auftreten von Maxillartastern: „Nur die Rhynchoten scheinen in Hinsicht dieser Organe entschieden zu kurz gekommen zu sein, denn Taster . . . weist kein Schnabelkerf auf . . . Ich habe bei meinen Untersuchungen nie etwas derartiges gesehen. . . .“ Weiter sagt er: „Mir jedoch für mein Teil will es natürlich erscheinen, wie auch Gerstfeldt in seiner Arbeit . . . tut, die Taster einfach als zugrunde-gegangen zu denken und anzunehmen, daß die Unterlippe lediglich aus den Körpern des dritten Kieferpaares gebildet wird.“ Wedde⁴⁾, der überhaupt mit einer gewissen Gewandheit über sich ergebende Schwierigkeiten hinweg-zugelangen versteht, sagt: „Taster fehlen den Maxillen vollständig. In dieser Tatsache kann ich durchaus nichts befremdendes finden; es ist doch sehr denkbar, daß ein rings eingeschlossenes und umhülltes Gebilde, wie in unserem Falle die Maxillen, Anhänge, die funktionslos geworden sind, verloren hat.“ Wir sehen also, daß die Zoologen vollständig einig darüber sind, daß die Maxillen, von den Mandibeln wird nicht gesprochen, nervöser Elemente ent-behren und lediglich die Konstituenten für die zwei wichtigsten Rohre ab-geben. In der Auffassung der Unterlippe als Tastorgan stimmen die Forscher überein. Nach Leon⁵⁾ sind, unabhängig davon, ob sich die Tiere von ani-malischen oder vegetabilischen Säften nähren, die Organe zum Auffinden der geeigneten Nahrung die Tasthaare, die sich am Ende der Schnabelscheide vorfinden. Dieses mit reichen Tasthaaren und Tastknöpfchen versehene Ende der Unterlippe hat nach Geise für unsere Tiere hohe Bedeutung. Durch dieselben werden sie in den Stand gesetzt, zuvor genau die Beschaffenheit der zu durchbohrenden Bedeckung zu prüfen, ehe sie einzudringen versuchen.

Nachdem nun zoologischerseits lediglich der Unterlippe die Rolle eines Tastorganes zugesprochen wird, fragt es sich, ob wir alle Erscheinungen willkürlicher Bewegungen des Borstenbündels, die wir im Pflanzengewebe unter Beziehung zu bestimmten Zellelementen, Inhaltsstoffen usw. kennen gelernt haben, damit verstehen können. Daß die Tasthaare beim Prüfen der

¹⁾ Vgl. Vogt, C. u. Jung, E., Lehrbuch der praktischen, vergleichenden Anatomie. Bd. 2. Braunschweig 1889—1894; speziell auch von nach Blanchard beigegebene Abbildung der bezüglichen Verhältnisse beim Maikäfer (Fig. 71, p. 152).

²⁾ Witlaczil, l. c. p. 19.

³⁾ Geise, l. c. p. 11.

⁴⁾ Wedde, l. c. p. 7.

⁵⁾ Leon, l. c. p. 34.

Beschaffenheit der Epidermis, dem Aufsuchen der dünnsten Stellen der Außenwände, insbesondere der äußeren Hautgelenke der Spaltöffnungen, dem Wahrnehmen der Radialwände an den Epidermiszellen zum Zwecke interzellularen Eindringens die erste und vielleicht einzige Rolle spielen, dürfen wir nicht bezweifeln. Wie aber erklären sich die in meiner Arbeit wiederholt gefundenen Beweise von feinem Empfinden, von großer Sicherheit in Verfolgung eines bestimmten Zieles? Ich stehe mit dieser von den Bildern dem Beobachter sich förmlich aufdrängenden Tatsache keineswegs allein. Auch Büsgen kommt wiederholt, ohne allerdings zur Sache weiter Stellung zu nehmen dazu, von Vorgängen zu sprechen, die den Besitz eines feinen Sinnesapparates voraussetzen. So fand er übereinstimmend mit mir, das auffallende Bevorzugen der Gefäßbündel, namentlich des Weichbastes, den das Tier oft unter komplizierter Umgehung mechanischer Hindernisse erreicht (vgl. seine Fig. 7, Taf. I). Äußerungen wie: „Das Ziel der Stiche ist wieder der Weichbast der Gefäßbündel“.... „üben keinerlei Anziehung auf das Tier“...., „daß unangenehme Zellinhalte umgangen werden“...., „und ein höchst auffallendes Zeichen des feinen Gefühls, mit welchem sie ihr Borstenbündel zu dirigieren vermag“...., beweisen die übereinstimmende Auffassung Büsgens. Dazu kommen die zahlreichen von mir beobachteten Tatsachen direkten Aufsuchens bestimmter Zellen und Gewebe durch die Borsten: der Kristallbehälter von *E v o n y m u s*, zuweilen der Öldrüsen von *A r t e m i s i a*, die gründliche Ausnutzung bestimmter Elemente der Gefäßbündel, die feinen Bewegungen und Krümmungen der Spitze des Borstenbündels, die ich mit der Leistungsfähigkeit des nervenreichen Elefantenrüsselendes verglichen habe, lauter Tatsachen, die ein äußerst präzises Wahrnehmen verschiedener chemischer Qualitäten im Nährgewebe bekunden. Dazu kommt das interzellulare Vordringen selbst, die Wahrnehmung der Turgorschwankungen und als Antwort darauf das wiederholte Einstechen in nährstoffreiche Gewebe in verschiedenen Richtungen, was ja schließlich die völlige Erschöpfung der Pflanze bedingt. Als weiteren Beweis für die präzise Wahrnehmung der Turgorstürze betrachte ich die wohl an jedem Objekt zu wiederholende Beobachtung der Wanderung der *Siphonophora millefolii* auf *Achillea millefolium* in acrofugaler Richtung. Die Tiere saßen an den Pflanzen, die abgeschnitten und ohne Glassturz in ein Gefäß mit Wasser gestellt worden waren, zunächst unmittelbar an den Blütenstielen als dicht pelziger Belag. Am nächsten Tage waren sämtliche Läuse als geschlossene Gruppe um etwa $\frac{1}{3}$ der ganzen Stengellänge tiefer gewandert, am zweiten Tage auf $\frac{2}{3}$ herabgekommen, am dritten Tage war die Pflanze verwelkt, die meisten Tiere im Glasgefäß ertrunken. Die Tiere haben also die Turgorverluste von der Spitze her sehr deutlich wahrgenommen und durch acrofugale Wanderung sich aus der wasserarmen Zone geflüchtet.

Wir müssen demnach den Tieren einmal die Fähigkeit zusprechen, chemische Qualitäten innerhalb der Pflanze wahrzunehmen, dieselben zu meiden oder aufzusuchen, ferner sich über Druckverhältnisse zu orientieren und auch die Lage mechanische, für viele Läuse unpassierbare Gewebe wahrzunehmen. Daß bei der hohen Spezialisierung und der großen Beschränkung von Wirt und Parasiten, der weitgehenden Anpassung des letzteren an den jeweiligen ersteren, die Vererbung eine nicht zu verachtende Rolle spielen wird und die Tiere bereits mit einer gewissen „Kenntnis“ des Nahrungsobjektes und

„instinktiv zweckmäßig“ arbeiten werden, entbindet uns keineswegs von der Notwendigkeit, spezifische Organe des chemischen Sinnes, denen allein die subtilen Differenzierungen in der Pflanze zugänglich sein können, aufzusuchen. Die von den Zoologen vertretene Auffassung ist also nichts weniger als den Tatsachen entsprechend; ich möchte sogar behaupten, daß gerade Tiere, die infolge ihrer trügen Lebensweise an anderen Sinnesorganen nachgewiesene Einbuße erlitten haben, eines chemischen Sinnes um so mehr bedürfen werden¹⁾.

Spezielle Untersuchungen müssen erst Bau und Lage solcher Organe wie der verbindenden Nervenfasern aufdecken. In diesem Zusammenhange möchte ich nur noch die Unsicherheit in der Deutung der Haken und Haare streifen, die an den Saugborsten vieler Rhynchoten aufgefunden worden sind und deren Bedeutung vielleicht auf einem ganz anderen Gebiet liegt, als dort, wo sie heute noch gesucht wird. Geise fand an den Mandibeln stets eine scharfe, lanzettliche Spitze und an den äußeren Rändern schärfere oder stumpfere Widerhaken vor, „welche wohl dazu dienen können, die . . . Chitingebilde während des Saugens in der Wunde zu fixieren. Oft jedoch auch finden sich Widerhaken, welche so stumpf erscheinen, daß man zu der Annahme gedrängt wird, daß diese Gebilde zu einer weiteren Zerfleischung der Wunde bestimmt seien.“ Auch an den Maxillen fand Geise seitliche Stacheln, aber diese Stacheln sind lang und fein und wohl eher Haare zu nennen; auch biegen sie sich stark nach innen um, auf diese Weise gleichsam die Höhlung der Maxillen überwölbend. „Zu einem Eindringen in festes Gewebe erscheinen die Maxillen daher durchaus ungeeignet.“ Geise kommt zur Überzeugung, daß solche Haare, die bald nach hinten, bald nach vorne gebogen sind, als Widerhaken nicht in Betracht kommen können. Die übrigen Deutungen hier zu bringen, halte ich für überflüssig; Tatsache ist jedenfalls, daß die bisherigen Auslegungen speziell für die Pflanzenläuse nach keiner Richtung befriedigen.

Blattläuse an meristematischem Gewebe.

Wir haben gesehen, daß die Folgen der Blattlausstiche für die Existenz und Lebensfähigkeit der davon betroffenen Zellen mannigfacher Art sind. Mögen auch die Turgorverluste nachträglich wieder teilweise ausgeglichen werden, so führen doch die Zerstörungserscheinungen im Bereiche der Stikanäle zur schließlichen Abtötung der betreffenden Zellen, diese werden von jedem weiteren Wachstum und jeder Teilnahme an den normalen Stoffwechselvorgängen ausgeschlossen und müssen der Pflanze schließlich Fremdkörper sein, die ihre normale Entfaltung und Entwicklung hemmen oder doch beeinträchtigen. Wir haben schon in Textfig. 5 den Grad der Wirkung von Blattlausstichen auf meristematisches Gewebe gesehen. Mit Rücksicht auf die Zartheit der Zellen, die Unmöglichkeit die Stiche interzellulär zu führen, und die große Zahl von Blattlausstichen, die an Mikrotomschnitten auch nicht einen Schnitt völlig frei ließen, sind die Wirkungen ungleich höher zu schätzen.

¹⁾ Nach Mordwilko, Beiträge zur Biologie der Pflanzenläuse. Aphididae (Biolog. Centralbl. 1909. p. 90) haben sich die Fortpflanzungsorgane und namentlich die Genitalanlagen zuungunsten anderer Organsysteme entwickelt, vor allem der Fortbewegungs- und Sinnesorgane.

Die Folge solcher Eingriffe sind bedeutende Entwicklungshemmungen¹⁾, Verkrüppelungen, Verkrümmungen und Narben in den sich entfaltenden jungen Organen. In Stengeln, die in jungen Stadien der Entwicklung befallen waren, findet man später nicht selten Spuren solcher Störungen, auch wenn die Blattläuse schon längst abgewandert sind. Bei *Artemisia* und *Evonymus* fand ich in Begleitung von Stichkanälen, die nur mehr schwach auf Safranin reagierten, die normale Anordnung der Elemente des Rindengewebes gestört; die Wände der Nachbarzellen einer toten Zelle gezerrt, diese unverhältnismäßig groß, in die Länge gezogen; Plasmakappen waren in solchen Zerstörungsfeldern nicht selten. Offenbar waren eine oder mehrere Zellen durch den Stich getötet worden, sie hatten ihr Wachstum eingestellt. Und um nun diese, wenn wir so sagen dürfen, Gewebelücke auszugleichen, sind die im Umkreis angeordneten Nachbarzellen unverhältnismäßig groß geworden, sie erscheinen in bezug auf das tote Zentrum radial bedeutend gestreckt. In solchen Zellkomplexen sind Gerbstoffansammlungen eine häufige Erscheinung. Soviel wir das Phänomen heute zu überblicken vermögen, bedeuten die Blattlausstiche dem meristematischen Gewebe jedenfalls einen viel tieferen, in der Folge viel nachhaltigeren Eingriff, als den im wesentlichen entwickelten Stengeln und Blättern.

Blattläuse und Milben.

Zum Schlusse möchte ich nun einer Erscheinung das Augenmerk zuwenden, dem Zusammenvorkommen von *Aphis grossulariae* und *Eriophyes ribis* auf *Ribes rubrum*. Ich fand bei meinen Untersuchungen nicht selten Blattlausstiche, deren nächste Umgebung bedeutende Hypertrophien, namentlich der Epidermiszellen zeigte. Es lag nun die Versuchung nahe, die Blattläuse als Erreger dieser Veränderungen anzusprechen. Jedoch zeigte sich, daß die Blattläuse auch vielerorts einstachen, wo Hypertrophien fehlten, während solche massenhaft in den Blattachseln waren, wo es gar keine Blattläuse gab, gar nicht geben konnte, weil sie hier keinen Platz gefunden hätten. Vielmehr waren es zahlreiche Milben, die in den verborgensten Falten der jungen Blätter saßen und durch ihre energische Saugtätigkeit und wahrscheinlich wohl auch intolge einer Giftwirkung die Zellhypertrophien, unter denen sich häufig vielkernige Zellen beobachten ließen²⁾, verursachten. Ein Nebeneinanderleben zweier Parasiten ist an und für sich nichts befremdliches. Da wir aber wissen, daß es in erster Linie die Blattläuse sind, welche die Übertragung dieser gefährlichen Milben von Stock zu Stock besorgen³⁾, liegt die Vermutung nahe, daß hier eine Wechselwirkung zwischen den beiden Tieren vorliegt⁴⁾. Obwohl die Blattläuse in ihrer Saugfähigkeit unabhängige Orga-

¹⁾ Inwieweit die Energie sich entwickelnder Organe mit solchen Störungen aufzuräumen vermag, bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten. Namentlich wird die Tatsache eine Erklärung finden müssen, daß häufig in der Knospenlage stark belagerte Vegetationsorgane in ihrer späteren Entwicklung wenig oder keine Schäden zeigen.

²⁾ Über das Auftreten vielkerniger Riesenzellen bei Blattlausgallen, die von mir zum erstenmal beobachtet worden sind, wird an anderer Stelle berichtet werden.

³⁾ Vgl. Soraue, Handbuch der Pflanzenkrankheiten. 3. Aufl. Bd. 3. p. 123.

⁴⁾ Auch Petri, Dactylopiuskrankheit, l. c. p. 378 ff. hat bei Besprechung der Krankheitserscheinungen der Wechselbeziehung zwischen Milben und Läusen gedacht. Zwar fand er, daß seitens der Schildläuse Substanzen abgeschieden und Veränderungen hervorgerufen werden, die die Milben zuweilen selbst von nährstoffreichen Geweben

nismen sind, können ihnen doch die durch einen viel energischeren Angriff seitens der Milben entstehenden Wucherungen und die dabei entstehenden viel lebhafteren Stoffzutransporte zugute kommen, wie von mir beobachtete Einstiche in hypertrophiertes Gewebe wahrscheinlich machen. Es wäre demnach an eine Wechselbeziehung der beiden Tiere zu denken, vor allem, daß die Blattläuse die Milben vielleicht als Mitarbeiter, Pioniere mitnehmen, während diesen wiederum eine raschere Verbreitung auf zahlreiche Stöcke möglich wäre.

Résumé.

1. Beim Vordringen des Borstenbündels fließt der Speichel demselben stets voraus und begleitet dessen Spitze, der er entquillt. Dadurch, daß beim weiteren Vordringen die Borsten in solches Sekret tauchen, entsteht jene in der Literatur als „starre Scheide“ aufgeführte Borstenhülle.

2. Die Ansicht, diese Scheide hätte in erster Linie eine mechanische Funktion, ist irrig; ein Aufrollen der Borsten ist nicht zu befürchten, und überdies bleibt das Speichelsekret eine Zeitlang zähflüssig und für Flüssigkeiten permeabel, was mit seiner Rolle im Dienste des Saugens zusammenhängt. Erst nachträglich und sekundär kann die Scheide die Borsten in der Sicherheit ihrer Bewegungen unterstützen. Wäre die Scheide in diesem Sinne eine *Conditio sine qua non*, dann könnten wir das Eindringen der Borsten bei Tieren, welche keine Scheide besitzen, nicht verstehen. Eine Bildung solcher Scheiden im engeren Sinne beschränkt sich meist auf die Hauptstichkanäle.

3. Wir müssen dem Speichelsekrete der Aphiden gleich dem anderer Rhynchoten die Fähigkeit zusprechen, mit Hilfe eines Diastase-ähnlichen Fermentes konstant Stärke in Zucker überzuführen.

4. Der Saugprozeß ist auf dreierlei Weise möglich: 1. Eine bestimmte Zelle wird angestochen und ohne Verletzung der äußeren Hautschicht des Protoplasten ausgesaugt; 2. die Aussaugung bestimmter Zellen erfolgt während deren vollständiger Durchbohrung; 3. die Aussaugung geht zufolge einer dem Speichel innewohnenden starken osmotischen Saugkraft bei interzellularem Stichverlauf ohne mechanische Verletzung der Zellen vor sich; dieser letzte Modus ist im Rindengewebe vorherrschend, während der zweite besonders im Leptom zur Geltung kommt. Der Vorteil der interzellularen Aussaugung liegt in einer kolossalen Saugwirkung bei relativ geringem Speicherverbrauch.

5. Das Vordringen der Borsten ist gebunden an eine stets gleichzeitig einsetzende Saugwirkung, welche den hohen Turgor der Zellen überwindet.

behalten. Immerhin aber hält er an der komplementären Rolle der beiden Organismen fast, namentlich betont er, daß es viele Schäden geben wird die wir irrtümlich bisher bloß den Insekten zugeschrieben haben.

6. In das Phänomen der interzellularen Saugung einbezogen werden stets zahlreiche Zellen, die sich in einem Raumzylinder um den Stichkanal gruppieren.

7. Diese Tatsache läßt erkennen, daß die Bildung starrer Scheiden stets erst relativ spät, nach gründlicher Aussaugung der betreffenden Gewebezone einsetzen kann.

8. Die Aussaugung erfolgt in der Richtung von der Epidermis zu den Gefäßbündeln.

9. Die Mächtigkeit der Cuticularschichten stellt ein bis zu einem bestimmten Grade wertvolles Schutzmittel der Pflanze gegen das mechanische Eindringen der Borsten dar.

10. Das Speichelsekret vermag die Turgorverhältnisse der mit Cutin ausgestatteten Epidermiszellen, solange es denselben bloß von außen anliegt, nicht zu ändern, also aus diesen nicht zu saugen.

11. Die Tiere vermögen fast stets weder mechanisch, noch mit Hilfe des Speichels die Schließzellen der Spaltöffnungen auseinanderzudrängen, sind also auch zur Überwindung des Turgors im Innern der Organe auf die osmotische Saugkraft des Speichels angewiesen.

12. Da die Zentralspalte den Eingang verwehrt, werden die Stomata fast immer an der dünnsten Stelle der Cuticularschichten, d. i. am äußeren Hautgelenke, durchbohrt.

13. Die Unwirksamkeit des Speichels außerhalb des Pflanzenkörpers ist nicht so sehr durch die Dicke der Cuticularschichten, als in erster Linie durch das Vorhandensein einer Cuticula bedingt.

14. Als Nahrungsquellen müssen gelten: Epidermis, alle Zellen der Rinde im Stengel bzw. des Mesophylls des Blattes und schließlich Hadrom und Leptom der Gefäßbündel.

15. Die Pflanzenzelle antwortet auf den Reiz, der vom Speichel ausgeht, durch Ansammlung von Protoplasma und aktiver Bewegung des Zellkernes nach der am meisten bedrohten Seite der Zelle.

16. Infolge einer Giftwirkung seitens des Speichels kommt es dann zur Bildung eigentümlicher Kappen, die auf Desorganisation von Plasma und Zellkern zurückzuführen sind.

17. Nur bei Rosa treten als weiteste Abwehraktion seitens der Pflanze kolossale Zellulosewandverdickungen in der Stichzone auf, mit denen ein lebhafter Verbrauch von Stärkekörnern Hand in Hand geht.

18. Der Giftreiz seitens des Speichels geht stets von der Borstenspitze aus und verbreitet sich in der Pflanze in Gestalt von Kugelwellen.

19. Alle die genannten Abwehraktionen seitens der Pflanze sind im Sinne eines Schutzes derselben ohne tiefere Bedeutung.

20. Empfindlichkeit und Reizbarkeit gegenüber den Blattläusenscheinen bei den von mir betrachteten Fällen, miteinander gleichsinnig, in einem gewissen Zusammenhang zu stehen.

21. Eine weitere Reaktion der Pflanze müssen wir in der Ansammlung von Gerbstoff in der Umgebung der Stiche erblicken, was lokal tatsächlich die Saugwirkung ausschalten vermag.

22. Der Gerbstoffgehalt der Zellen ist in vielen Fällen für die Blattläuse kein Anlaß, dieselben zu meiden. Seine Rolle ist bisher vielfach überschätzt worden. Jedenfalls kommt es in erster Linie auf die Natur des Gerbstoffes an, wenn er lokal zum Schutz wird.

23. Die Rolle der Behälter mit oxalsaurem Kalk ist jedenfalls mehrfacher Natur und bedarf noch weiterer Untersuchungen.

24. Die Öldrüsen dürfen wir keineswegs als Schutzmittel ansprechen, denn sie sind zuweilen eine Nahrungsquelle und werden unter Umständen sogar zum Ziele des Stiches.

25. In den Borsten wird nach Nervenelementen und spezifischen Sinnesorganen zu suchen sein, da wir den Tieren die Fähigkeiten zusprechen müssen: 1. chemische Qualitäten im Innern der Pflanze zu unterscheiden und 2. Druckverhältnisse wahrzunehmen.

26. Die Wirkungen der Blattlausstiche in meristematischem Gewebe sind sehr nachhaltiger Natur.

27. Blattläuse und Milben scheinen in bestimmten Wechselbeziehungen zu stehen.

Literaturnachweis.

- D'Arsonval, La pression osmotique et son rôle de défendre contre le froid. (Compt. rend. hebdom. d. séances de l'Acad. d. scienc. 8. Juli 1901.)
- Averna-Saccà, R., L'acidità dei suochi nelle viti americane in rapporto alla resistenza di esse alla fillossera, secondo Comes. (Atti Rend. Istit. d'Incoraggiam. Ser. 6. Napoli 1910.)
- , L'acidità dei suochi delle piante in rapporto alla resistenza contro gli attacchi dei parassiti. (Staz. sperim. agr. ital. Vol. 43. Modena 1910.)
- Banti, A., Gli Afidi e modi per combatterli. (Ital. agrar. nel 20. secolo. Pistoia 1900.)
- de Bary, A., Vergleichende Anatomie der Vegetationsorgane. 1876.
- Blath, Die Blutlaus, ihr Auftreten und ihre Vertilgung. Magdeburg 1899.
- Börner, C., Aphididen, Blattläuse. (P. Sorauer, Handb. d. Pflanzenkrankh. 3. Aufl. Bd. 3. 1913.)
- , Eine monographische Studie der Chermiden. (Arb. a. d. Kais. Biol. Anst. Bd. 6. 1908. p. 81—320.)
- Brandes, G., Die Blattläuse und der Honigtau. (Zeitschr. f. Naturw. 1893.)
- Burmeister, H., Handbuch der Entomologie. Bd. 1. Berlin 1832.
- Büsgen, M., Der Honigtau, Biologische Studien an Pflanzen und Pflanzenläusen. Jena 1891.
- , Beobachtungen über das Verhalten des Gerbstoffes in den Pflanzen. (Jen. Zeitschr. f. Naturw. Bd. 24. N. F. 17.)
- Busse, W., Untersuchungen über die Krankheiten der Sorghum-Hirse. Ein Beitrag zur Pathologie und Biologie tropischer Kulturgewächse. (Arb. a. d. Biol. Abt. f. Landu. Forstw. a. Kais. Gesundheitsamte. Bd. 4. 1905. p. 319—425.)
- Coupin, H., Sur la sensibilité des végétaux supérieurs à des doses très faibles de substances toxiques. (Compt. rend. 1901. 1. p. 645.)

- Daniel, L., Sur la greffe de quelques variétés de Haricots. (Compt. rend. hebdomadaire. T. 147. 1908.)
- Doerstling, Auftreten von Aphis an Wurzeln von Zuckerrüben. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1900. p. 21.)
- Geise, O., Die Mundteile der Rhynchoten, Untersuchungen an einigen Wasserkäfern. Bonn 1883.
- Gerstfeldt, Über die Mundteile der saugenden Insekten. Leipzig 1853.
- Gießler, R. J., Die Lokalisation der Oxalsäure in der Pflanze. (Jenaische Zeitschr. f. Naturw. 1893.)
- Gruner, M., Biologische Untersuchungen an Schaumzikaden. Berlin 1901.
- Guttenberg, H. v., Cytologische Studien an Synchronytrium gallen. (Jahrb. f. wiss. Botan. Bd. 46. 1909. p. 453.)
- , Beiträge zur physiologischen Anatomie der Pilzgallen. Leipzig 1905.
- Haberlandt, G., Über die Beziehungen zwischen Lage und Funktion des Zellkernes. Jena 1887.
- , Physiologische Pflanzenanatomie. 4. Aufl. 1909.
- Hartwich, C., Über Gerbstoffkugeln und Ligninkörper in der Nahrungsschicht der Infectoria-Galle. (Ber. d. deutsch. botan. Gesellsch. Bd. 3. 1885. p. 146.)
- Heikertinger, F., Gibt es natürliche Schutzmittel der Rinden unserer Holzgewächse gegen Tierfraß? (Naturw. Zeitschr. f. Forst- u. Landw. Jg. 12. 1914. p. 97.)
- Jost, L., Vorlesungen über Pflanzenphysiologie. Jena 1904.
- Judeich u. Nitsche, Lehrbuch der europäischen Forstinsekten. Bd. 2. 1895.
- Koch, C. L., Die Pflanzenläuse, Aphiden. Nürnberg 1857.
- Kochs, J., Beiträge zur Einwirkung der Schildläuse auf das Pflanzengewebe. (Jahrb. d. Hamburg. wissensch. Anstalt. Bd. 17. Beih. 3. 1900.)
- Kolbe, H., Beitrag zur Biologie der Aphiden. (Berlin. Entomol. Zeitschr. 1884. H. 2.)
- Küstenmacher, Beiträge zur Kenntnis der Gallenbildungen mit Berücksichtigung des Gerbstoffes. (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 26. 1894. p. 82.)
- Küster, E., Über die Beziehungen der Lage des Zellkernes zu Zellenwachstum und Membranbildung. (Flora. Bd. 97. 1907. p. 1.)
- , Pathologische Pflanzenanatomie. Jena 1903.
- Leon, N., Beiträge zur Kenntnis der Mundteile der Hemipteren. Jena 1887.
- Lindinger, Die Schildläuse, Cocciden. Stuttgart 1912.
- Linsbauer, L., Einige Bemerkungen über Anthokyanbildung. (Österr. bot. Zeitschr. 1901.)
- Magnus, W., Studien an der endotrophen Mykorrhiza von Neottia Nidus avis L. (Jahrb. f. wiss. Botan. Bd. 35. 1900.)
- Mark, E. L., Beiträge zur Anatomie der Pflanzenläuse, insbesondere der Cocciden. Bonn 1876.
- Mirande, M., Sur l'origine de l'anthocyanine déduite de l'observation de quelques insectes parasites de feuilles. (Compt. rend. hebdomadaire. d. séance. de l'Ac. d. sc. Paris. 1907)
- Molisch, H., Mikrochemie der Pflanzen. Jena 1913.
- Molliard, M., Hypertrophie pathologique des cellules végétales. (Rev. génér. de Botan. T. 9. 1897. p. 33.)
- , Remarques physiologiques relatives au déterminisme des galls. (Bull. d. l. Soc. Biol. d. France. T. 57. 1910. p. 24.)
- Mordwilko, A., Beiträge zur Biologie der Pflanzenläuse, Aphididae. (Biol. Centralbl. Bd. 27. 1907. p. 529, 561, 747, 769 ff. u. Bd. 29, 1909. p. 82, 97, 147, 164 ff.)
- , Die Ameisen und Blattläuse in ihren gegenseitigen Beziehungen und das Zusammenleben von Lebewesen überhaupt. (Biol. Centralbl. 1907. p. 212, 233 ff.)
- Morstatt, H., Untersuchungen an der roten austernförmigen Schildlaus Diaspis fallax nov. nom. Horvath. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 21.)
- Nördlinger, Über den Waldhonigtau. (Allgem. Forst- u. Jagdzeitg. Bd. 20. 1854. p. 365.)
- Nördlinger Waldhonigtau. (Krit. Blätter f. Forst- u. Jagdw. Bd. 46. 1864.)
- , Overton, Beobachtungen und Versuche über das Auftreten von rotem Zellsaft bei Pflanzen. (Zeitschr. f. wiss. Botan. Bd. 33. 1899. p. 171.)
- Petri, L., Über die Wurzelfäule phyloxerierter Weinstöcke. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1909. p. 18.)
- , Einige Bemerkungen über die Rolle der Milben bei der Dactylopiuskrankheit der Reben. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 21.)
- , Sopra un caso di parassitismo di una cocciniglia (Mytilaspis fulva Targ. var.?) sulle radici di olivo. (Rend. accad. dei Lincei. 16. 2. Sem. Roma 1907.)

- Petri, L., Ricerche istologiche sulle radici di diversi vitigni in rapporto al grado di resistenza alla fillossera. (Rend. accad. dei Lincei. 19. 1. Sem. Roma 1910.)
 —, Ricerche sulle sostanze tanniche delle radici nel genere Vitis in rapporto alla fillosserosi. (Rend. Accad. dei Lincei. 20. 1. Sem. Roma 1911.)
 Plateau, F., Recherches sur les phénomènes de la digestion chez les Insectes. Bruxelles 1874.
 Räuber, A., Die natürlichen Schutzmittel der Rinden unserer einheimischen Holzgewächse gegen Beschädigungen durch die im Walde lebenden Säugetiere. (Jenaische Zeitschr. f. Naturw. Bd. 46. 1910.)
 Shibata, K., Cytologische Studien über die endotrophen Mykorrhizen. (Jahrb. f. wissensch. Botan. Bd. 37. 1902. p. 645.)
 Sorauer, P., Handbuch der Pflanzenkrankheiten. 3. Aufl. Bd. 3. 1913.
 Stahl, E., Pflanzen und Schnecken. (Jenaische Zeitschr. f. Naturw. Bd. 22. 1888.)
 Stift, A., Über das Auftreten von Blattläusen auf Zuckerrüben. (Blätter f. Zuckerrübenb. Jg. 14. 1907. p. 292.)
 Šulc, K., Über Respiration, Tracheensystem und Schaumproduktion der Schaumzikadenlarven (Aphrophorinae - Homoptera). (Zeitschr. f. wissensch. Zool. Bd. 49. 1911. H. 1.)
 Vogt, C. u. Jung, Lehrbuch der praktischen, vergleichenden Anatomie. Bd. 2. Braunschweig 1889—1894.
 Warming, Beobachtungen über Pflanzen mit überwinternden Laubblättern. (Bot. Centralbl. Bd. 4. 1882. H. 3.)
 Wedde, H., Beiträge zur Kenntnis des Rhynchotenrüssels. Berlin 1885.
 Witlaczil, E., Zur Anatomie der Aphiden. (Arb. a. d. zool. Inst. Wien. Bd. 4. 1882. H. 3.)

Figurenerklärung.

Tafel I.

Fig. 1. Querschnitt durch die Rinde von *Evonymus europaeus*. Aussaugung einer einzelnen Zelle durch *Aphis rumicis*; III, IV, dritte und vierte Zelllage unter der Epidermis.

Fig. 2. Normaler Einstich durch eine Spaltöffnung am Stengel von *Evonymus*. Das Speichelsekret ist hier, wie in den folgenden Bildern schwarz gehalten.

Fig. 3. Aussaugung im Leptom von *Evonymus*. Charakteristische Krümmung der Borstenspitze.

Fig. 4. „Kappen“bildung an Rindenzellen von *Evonymus* unter dem Einflusse des interzellulär ausgeschiedenen Speichelsekretes. In der ersten Zelle rechts oben ein Chlorophyllkorn, in der zweiten unmittelbar neben der Kappe der teilweise degenierte Zellkern.

Fig. 5. Vergebliche Einstichversuche durch die Epidermisaußenwände am Stengel von *Evonymus*. Die beiden Zapfen sind Speichelsekret.

Fig. 6. Stich der *Siphonophora Rosae* durch das Collenchym des Blattstieles von *Rosa*. Die in Mitleidenschaft gezogenen Zellen zeigen an der Stichseite kolossale Wandverdickungen.

Fig. 7. Kristallbehälter in der Rinde von *Evonymus*. Drei Nachbarzellen zeigen ihm zugekehrt mehr oder minder weit vorgeschrittene „Kappen“bildung.

Fig. 8. Interzelluläre Aussaugung in der Rinde von *Evonymus* mit gleichzeitiger „Kappen“bildung.

Fig. 9. In der Wunde steckendes Borstenbündel. Sekretausscheidung außerhalb und innerhalb der Epidermiszelle, während die Durchsetzung der Cuticularschichten hiervon frei ist. (Vgl. auch Tafel II. Fig. 22.)

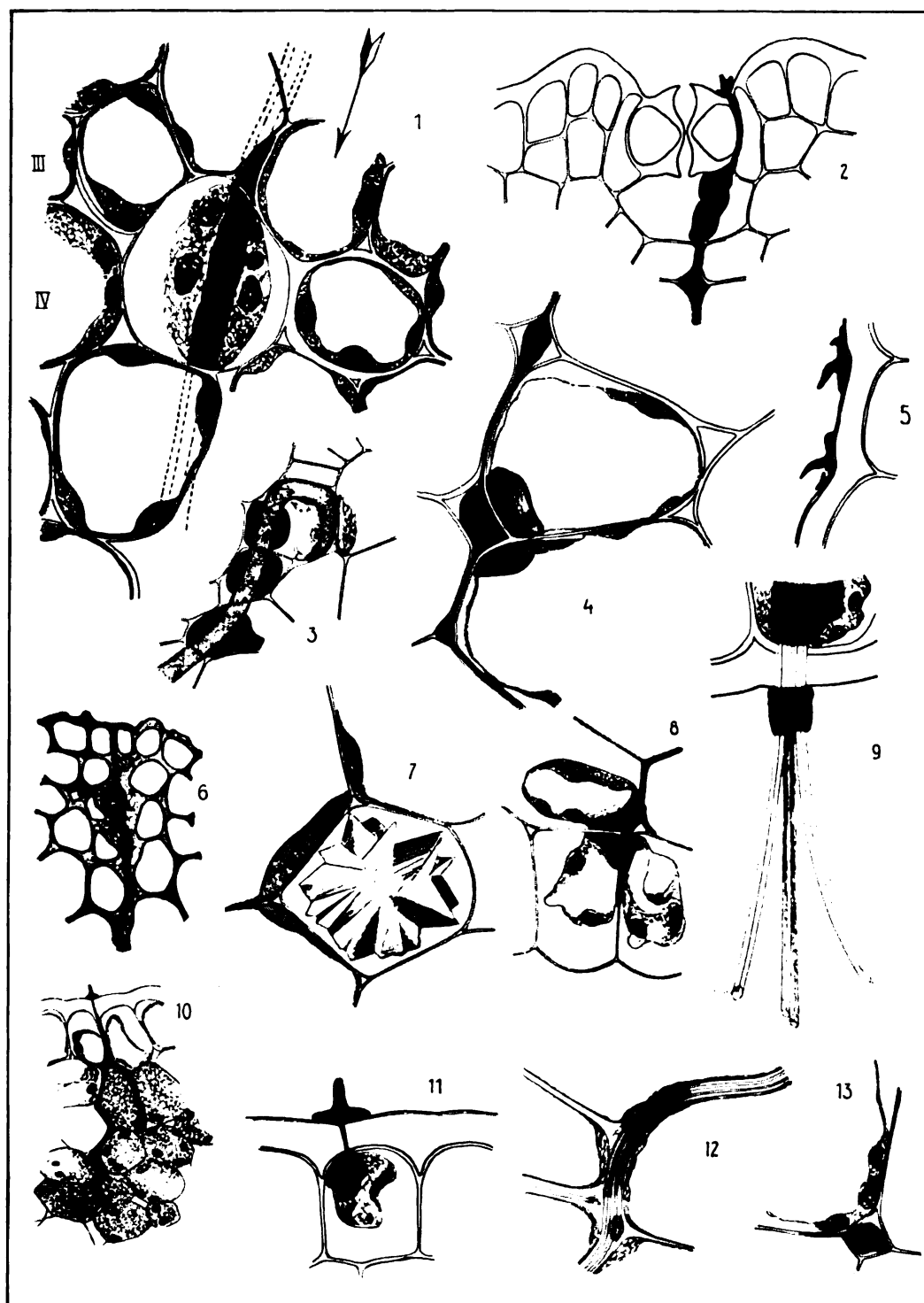
Die Mittelborste, welche Speichel- und Saugrohr enthält, zeigt im Bilde zwei dunkle Streifen, wodurch das von mir beobachtete Vorhandensein von Speichel, bzw. mit Speichel gemischte Pflanzensäfte angedeutet sein soll. Die linke Mandibularborste führt an der Abbruchstelle ein trübes Wölkenchen.

Fig. 10. Gerbstoffansammlung in der unmittelbaren Umgebung zweier Stichkanäle bei *Evonymus*.

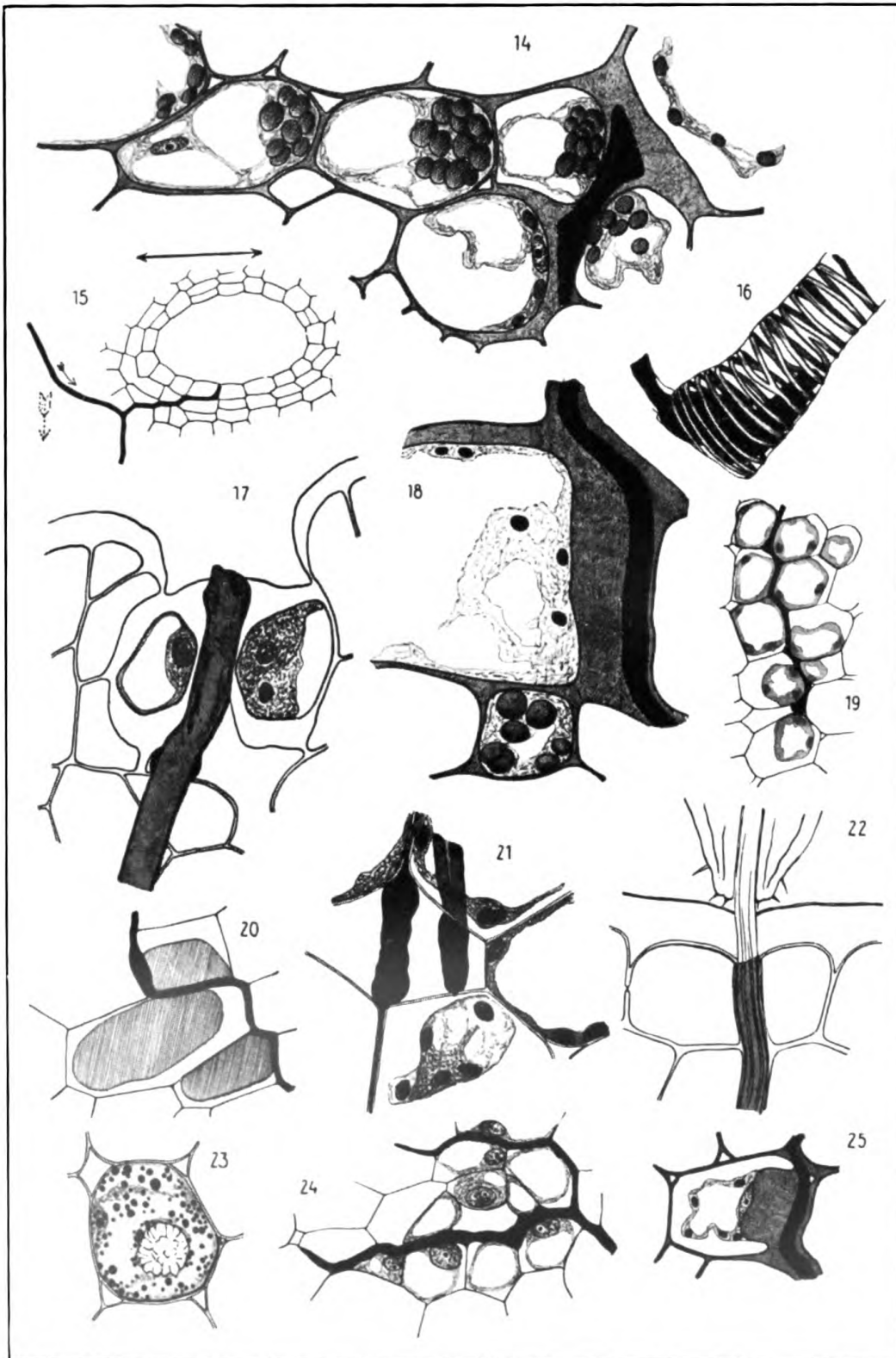
Fig. 11. Vollständige Aussaugung einer Epidermiszelle am Stengel von *Evonymus*.

Fig. 12. Interzellulärer Stich der *Aphis Sambuci* durch die Rinde von *Sambucus* mit gleichzeitiger „Kappen“bildung, nach Differenzierung der letzteren. Speichelsekret grau, Protoplasma granuliert, die Zellulose der Zellwände weiß gehalten.

Fig. 13. Aktive Wanderung von Plasma und Zellkern aus der Rinde von der *Evonymus*, infolge eines wahrscheinlich chemischen Reizes des Speichelsekretes



Verlag von Gustav Fischer in Jena.



Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena**.

T a f e l II.

Fig. 14. Zelluloseabscheidung der Parenchymzellen von *Rosa* in der unmittelbaren Umgebung eines interzellularen Stichkanals. Die im ganzen in Mitleidenschaft gezogenen Gewebe sehr charakteristisch gelagerten Stärkekörner sind grau gezeichnet.

Fig. 15. Stich der *Siphonophora absinthii* durch die Rinde des Stengels von *Artemisia absinthium* in der Richtung zu einer Öldrüse. Pfeil: Richtung des Stiches; Doppelpfeil: Richtung der Tangente zur Epidermis; punktierter Pfeil: Richtung zum Leptom des Gefäßbündels.

Fig. 16. Eindringen des Stiches in ein Spiralgefäß von *Evonymus*.

Fig. 17. Seltener Fall des Stiches durch die Spaltöffnung von *Evonymus*. Die linke Schließzelle ist gewaltsam zur Seite gedrückt und zeigt Verdickungen an der Rückenwand wie am inneren Hautgelenk.

Fig. 18. Zelluloseverdickungen einer Zelle von *Rosa* an der vom Stiche zunächst bedrohten Wand unter gleichzeitigem Aufbrauch von Stärkekörnern.

Fig. 19. Interzellulare Aussaugung in der Rinde von *Evonymus*.

Fig. 20. Aussaugung von gerbstoffreichen Zellen in der Rinde von *Ribes rubrum* durch *Aphis grossulariae*.

Fig. 21. Seltener Fall der Aussaugung einzelner Zellen von *Evonymus* bei ausschließlicher Durchbohrung der Zellwand.

Fig. 22. Borstenbündel bei Durchsetzung der Epidermis von *Evonymus*. Das Speichelsekret wird erst nach Durchsetzung der Cuticularschichten abgesondert.

Fig. 23. Auftreten zahlreicher Gerbstoffvakuolen in der Umgebung einer allem Anscheine nach in Auflösung begriffenen Calciumoxalatdrüse.

Fig. 24. Aussaugung einer Öldrüse von *Artemisia absinthium*.

Fig. 25. Zellulosepolster einer Rindenzelle von *Rosa* als „Abwehraktion“ gegen den Blattlausstich. Charakteristisch ist die Lage des Zellkernes.

Nachdruck verboten.

Investigation of the comparative Values of various Culture Media for the quantitative Determination of Microorganisms in Cane Sugar Products.

By Wm. L. Owen, New Orleans, La., U. S. A..

Research Bacteriologist, Louisiana Sugar Experiment Station.

Mit 6 Textfiguren.

Chapter I.

1.

Comparison of Media for the quantitative Determination of the Microorganisms in raw Cane Juices.

In selecting a culture medium for the quantitative bacteriological analysis of any substance, the chief criterion of its value for this purpose, is the degree to which its composition favors the maximum colony development upon it of the species occurring in the substance to be analyzed. To be sure the selection of a culture medium on the basis of the maximum colony development, to which its composition conduces, may not always result in affording the most reliable information as to the relative numbers of the various species occurring in the original product. Indeed the culture medium yielding the highest counts of bacteria in a given substance, may entirely exclude the development of certain species, which constitute a very important part of the bacterial flora of the particular substance, and therefore an estimation of their numbers would tend to add materially to the value of the analysis. To the extent therefore that a culture medium admits of the development upon it of all the species of bacteria occurring in the product to be analyzed,

and to the extent also which this aggregate development represents the same numerical proportion between the different species as existed in the material analyzed, its value as a medium for quantitative bacteriological determinations depends.

There are few cases, however, in which a culture medium so thoroughly fulfills the conditions above outlined, as to give it a perfect score. There are many causes contributing to this usual discrepancy between the actual and computed number of microorganisms in any product. In the first place, it is usually very difficult to supply in an artificial culture medium as favorable conditions for the development of microorganisms as those present in their natural environments. Or, again, it often happens that the development of certain species of bacteria upon a culture medium, renders it unsuited for others, owing either to the changes which are wrought in its composition, or to the secretive products which may exercise a toxic action on other species. In many cases it is impossible to supply in any one culture medium, the varied, and even opposite requirements of the different species occurring in the product to be analyzed. These different, and often reverse requirements, are often fulfilled, in a natural product, to an extent impossible of attainment in an artificial laboratory medium. Thus we find both aerobic and anaerobic bacteria simultaneously active in soil, or even in milk, but when we endeavor to estimate the number of both groups, no one culture medium will be found to suffice. In the same way we find associated in soils, certain groups of bacteria, for which the presence of organic nitrogen is a vital necessity, with others for which the presence of this material is entirely inimical to their development. Obviously such divergent requirements as above described, could never be completely reconciled in any artificial substratum that might be elaborated, and such cases are likely to be met with in the quantitative bacteriological analysis of almost any substance. Even where these factors of error in quantitative bacteriological analysis are wanting, the physical condition of the culture medium cannot always be made to sufficiently approximate that of the product to be analyzed. As a result the culture medium often represents too radical a change from the original habitat of the microorganisms, to admit of their developing to an extent which affords an adequate conception of the number originally present. Another source of error is the very high degree of dilution, which it is necessary to employ with certain substances, which contain large numbers of bacteria. In order to reduce the number of colonies developing on the plates to a point which admits of their accurate enumeration, it is often necessary to dilute the original product from 1 to 10,000 to 1 to 500,000, and in certain cases from 1 to 1,000,000. These high dilutions may result in the exclusion of all but the predominating species of bacteria, which has a tendency to destroy the original equilibrium existing between the various species in the original environment. As a result of this change in the actual numbers of the various species occurring in the diluted product, the less numerous species may be entirely obscured by the interference of the predominant species, to an extent which might not have been possible in the undiluted sample, even though the relative proportion between the species remains the same. All of the above enumerated factors of error in quantitative bacteriological analysis, leave much to be desired in the accuracy of the present method, upon which reliance has to be placed in our investigations of the numbers of microorganisms occurring in various products.

There are two primary considerations for our guidance in the selection of a culture medium for the quantitative analysis of any given substance. These considerations are 1. The use of a natural culture medium made from the product to be analyzed; 2. The use of a synthetic media, or media made from substances which will give it a composition approximating as nearly as possible that of the product to be analyzed. Wherever it is possible to employ a natural medium, desired results can best be expected from its use, than from the use of a synthetic medium. When a medium is made in part or entirely from the product to be analyzed, the question of providing favorable conditions for the development of bacteria occurring in it, would seem in every case to be satisfactorily answered. It would seem that the natural medium would always prove superior to the synthetic medium, even where the latter could be made to very closely approximate the former in composition. But this is not always true, owing to the fact that the natural medium is often so changed in its composition by the treatment to which it has to be subjected in converting it into a culture medium, that it loses its original superiority over the artificial medium. The artificial or synthetic medium consists as a rule of, a combination of the ingredients essential to the nutrition of bacteria, and is usually more resistant to the treatment incident to sterilization and general preparation than the natural medium. For example, in the determination of bacteria in soils, it has been found that a synthetic medium is superior to a natural medium consisting of a soil extract. In determining the number of bacteria in milk, synthetic media are employed more extensively for that purpose than natural media, and the same is true of many other lines of bacteriological investigations.

In the quantitative determination of the microorganisms in cane juices, we have but little former work to guide us in making our selection of culture media to be used in this connection. Greig Smith¹⁾ employed a sucrose agar for this purpose, as did Noel Deerr²⁾ and Norris. In making such determinations on beet juices, Laxa³⁾ employed a beet juices agar. In order to compare the value of natural media, with those of synthetic preparation, a number were chosen for our experiments representing both classes of culture media.

Plan of Experiments.

The following culture media were employed in the quantitative bacteriological determination of cane juices:

Sucrose Agar (Greig Smith)		Plain Agar	
Cane Sugar	10 %	Peptone	1 %
Potassium chloride	0.5 %	Sodium chloride	0.5 %
Sodium phosphate	0.2 %	Beef extract	0.3 %
Peptone	0.1 %	Agar Agar	2.0 %
Agar Agar	2.0 %		
Corrected to + .5 Fuller scale		Corrected to + .5 Fuller scale.	
Raw Juice Agar		Raw Juice Peptone Agar	
Fresh Raw Cane Juice		Fresh Filtered Raw Juice	
Heated and filtered through		Peptone (1 %)	
cotton, and solidified with 2 % Agar		Agar Agar	
		1000 cc.	
		10 gm.	
		20 gm.	

¹⁾ Proc. Lin. Soc. of New South Wales. 1901. p. 674—684.

²⁾ Bull. Hawaiian Sugar Planters' Expt. Stat. 24.

³⁾ Laxa, Böhm. Zeitschr. Bd. 20. 1901—02. p. 122.

Raw Sugar Agar		Raw Sugar Peptone Agar	
Second Sugar (80°) (10 %)	100 gms.	Second Sugar	100 gms.
Tap Water	1000 cc.	Peptone	10 gms.
Agar Agar, 2 %	20 gms.	Agar Agar, 2 %	20 gms.
		Tap Water	1000 cc.

Molasses Agar		Molasses Peptone Agar	
Final Molasses, 75 Brix	160 gms.	Final Molasses	160 gms.
Tap Water	1000 cc.	Peptone	10 gms.
Agar Agar	20 gms.	Agar Agar	20 gms.
		Tap Water	1000 cc.

It was thought that the various nutritive requirements of the different species of bacteria in cane juices would be satisfactorily met in some of these media. The series of media employed is not only a comparison of the values of the natural and artificial substrata, for the development of the microorganisms of cane juices, but there is also included in it a test of the peptone demands of the flora of these products. Cane juices seem normally to nourish two main groups of bacteria which fall into two distinct classes according to their demands for nitrogen. The group of bacteria causing deterioration of sugars, are also to be found in juices, and these have been shown to have a very low nitrogen requirement as compared to other species also occurring therein. The medium which Greig Smith found most suitable for the quantitative estimation of the bacteria in sugars, was one containing 0.1 per cent of peptone, which is a very small amount compared with the usual culture medium formula which calls for 1 per cent. The comparison of media with and without peptone was based upon the assumption that some of their nitrogen would be lost in the process of filtration, and that some addition of nitrogen might be necessary to restore their original value as nutrient media. The addition of peptone to the molasses and raw sugar agars, was deemed necessary owing to the fact that in these cases the original product was diluted to an extent which would have tended to make their nitrogen content rather low. The composition of the Raw Sugar Agar represents an extreme case of nitrogen poor culture media. Here we have only a 10 per cent sugar solution, in water, and although the sugar employed is of a very low grade, containing some molasses and impurities, yet it is far below the rank of the molasses agar in its nitrogen content. In this case the peptone should produce very striking benefits, unless the microorganisms have very low nitrogen requirements.

Only the purely synthetic media were corrected in their reaction to the standard. In the case of the others, it was thought that the chief argument for their use should consist in their being suitable in their natural condition for use as substrata for the development of the microorganism to be estimated. Their reaction, therefore, was not adjusted to any standard, but was left to operate as an advantage or disadvantage, and in this way would tend to establish the value of the product in its original condition as a culture medium for the purpose intended. If it were necessary to change the reaction of a natural medium, or to alter its composition to any great extent before it would be suitable for quantitative estimations, whatever advantages it might have had over the synthetic media would be largely offset by the greater ease with which artificial media can be standardized both in reaction and composition, and the greater stability which they usually have under the conditions incident to their preparation as culture media. In the prepa-

ration of these media, as well as in their sterilization, care was exercised to avoid the influence of elevated temperatures upon the sugars which they contained. With the plain agar, the autoclave was used to sterilize the medium, but in all other cases, the intermittent method of sterilization was employed. To facilitate the digestion of the agar, it was placed in a flask to itself, and subjected to a pressure of ten pounds in the autoclave for fifteen minutes. It was then taken out and the other ingredients, which had been dissolved in another portion of water, were poured into the flask containing the dissolved agar. The solution was then made up to the mark, some water having to be supplied to make up for losses due to evaporation, and then poured into tubes, which were placed in wire baskets and sterilized for a period of fifteen minutes in an Arnold sterilizer, for three consecutive days.

The samples of cane juice were collected at the Station sugar house, during the grinding season. In collecting them an effort was made to have them as nearly representative of mill extracted juices as possible. However, as it was not the purpose of the investigation to ascertain the normal bacterial content of these products, no effort was made to confine our experiments to the use of only freshly extracted juices. Providing that a cane juice contains its normal bacterial flora, the extent to which the species constituting it have developed, and the amount of change that has been induced in the composition of the juice as a result of this development, are questions with which we are not primarily concerned. The advantages of one culture medium over another when used for estimating the number of microorganisms in fresh juice should apply equally well after this same juice has been allowed to undergo fermentation as a result of the development of the microorganisms. So long as the ratio between the different species contained in the product, remain constant, the same culture medium should prove of equal advantage in both cases.

The method of making the dilution for the counts has been as follows. Where the dilution was to from 1 : 10,000, 5 cc. of the juice was transferred to 500 cc. of sterilized water by means of a sterilized pipette, making a dilution of 1 : 100 cc. From the flask containing this dilution, another 5 cc. portion was again transferred to another flask containing 500 cc. of sterilized water. After thoroughly shaking this flask to distribute the microorganisms uniformly throughout the volume, — one cc. portions were transferred to sterilized plates. For the 1 : 25,000 dilutions, which were employed in certain cases, the method was as follows. Five cc. of the juice were introduced into flasks containing 500 cc. of sterilized water, and from this flask 2 cc. were again transferred to a second flask containing 500 cc. of sterilized water, from which one cc. portions were introduced into the plates. In pouring the media into the plates care was taken to have the media, which had been previously melted in the sterilizer, reduced to a temperature, which would not injure the microorganisms contained in the inoculating material. For this purpose there was provided a large water bath, with a capacity for twenty-five tubes, and provided with a thermal regulator which kept the temperature of the water below 45° C. The tubes were left in the bath long enough for their contents to cool to the desired temperature, when they were then poured into the plates. Six plates were prepared for every count, and the average taken of the number of colonies developing on all of the plates in a series. By making the determination in parallels of six, the factor

of error is greatly reduced. The factor of error for these counts was determined by means of the formula

$$E = \pm \sqrt{\frac{S}{N(N-1)}}$$

E = Factor of Error

S = Sum of Square of Variations from the average

N = Number of parallel determinations.

From this formula it can readily be seen that the factor of error in any determination tends to be great or small according to the number of parallel determinations, being much greater when a few are made than when there are many. For example, in a case where we have six plates, with the number of colonies as follows, the factor of error becomes ± 1 . But if there had been only three parallel determinations, the factor of error becomes ± 3.05 even when we select the three plates that showed the smallest variation:

With Parallels of 6	With Parallels of 3
76	—
66	—
62	76
76	74
64	66
62	—
<hr/> E = ± 1	<hr/> E = ± 3.05

From this example we see that the factor of error with three parallel determinations is over three times as large as where six parallel determinations are made.

After pouring the various culture media to be tested into the plates containing the diluted juice, they were first allowed to solidify, and then placed in the incubator where they were kept for one week at a temperature of 35° C. In pouring the media into the plates great care was exercised to thoroughly mix the medium and the inoculating material in the plates, before the medium solidified. At the expiration of the incubation period the plates were taken out of the incubator and the colonies counted. In order to facilitate this work, a small hand lens was used, and where the number of colonies warranted its use, a counting apparatus (of the make of Mason Miller McPherson) was employed, by means of which the number of colonies were computed. They were again placed in the incubator, and reexamined on the following day to see if further development had taken place, which could easily be determined owing to the fact that the colonies which had previously been counted had their position marked on the plates with ink. It was subsequently found, however, that a week was amply sufficient for the completion of the colony development, and so the precaution of the second count was deemed unnecessary. (See Table I.)

In this experiment we find that sucrose agar gave the highest result, the next in rank being plain agar. The factor of error in the sucrose agar series is high, being 53.5 colonies, equivalent to 535,000 microorganisms per cc. But as the margin between the two is much greater than the factor of error, the advantage is in favor of the sucrose agar, even when the entire error is considered as plus instead of minus. The Plain Agar and Raw Sugar Pepton Agar have a very nearly equal rank, the order in rank in the series being, Raw Sugar Agar and Raw Juice Peptone Agar, the two virtually having an equal rank, the next, in order being Raw Juice Agar, following which

Table I.
Raw Juice, Nov. 11, 1912. Incubation Period 1 week.

Medium	Dilution	Number of Colonies						No. Bact. per cc. (+ 000)	Factor of Error
		1	2	3	4	5	6		
Sucrose Agar	1 : 10,000	730	720	500	840	980	840	7,680	± 53.58
		Average 768							
Plain Agar	1 : 10,000	140	170	200	172	160	160	1,670	± 8.06
		Average 167							
Raw Sugar Agar	1 : 10,000	108	140	140	112	132	120	1,250	± 5.72
		Average 125							
Raw Sugar Peptone Agar	1 : 10,000	168	128	176	160	140	136	1,510	+ 55.4
		Average 151							
Raw Juice Agar	1 : 10,000	136	108	108	132	112	116	1,200	± 5.06
		Average 120							
Raw Juice Peptone Agar	1 : 10,000	116	140	128	116	—	—	1,250	± 5.74
		Average 125							
Molasses Agar	1 : 10,000	60	68	35	46	32	20	450	± 7.42
		Average 45							
Molasses Peptone Agar	1 : 10,000	80	64	72	82	90	90	790	± 4.18
		Average 79							

come Molasses Peptone Agar and Molasses Agar. We find that the addition of peptone resulted in increases in every case, being greatest in the molasses series, and least in the raw juice series. It appears evident that the addition of peptone to the juice, while slightly improving its value as a culture medium, does not restore its original value as a substratum for the microorganisms constituting its normal flora. The high rank taken by Raw Sugar Agar is difficult to explain, unless it owes its value to the fact that its composition is perhaps more similar to the sucrose agar than any of the other media. It is evident that the relative value of these media cannot be attributed to the presence or lack of any one ingredient, but rather to a favorable combination of these essential elements of nutrition. If peptone were the controlling factor in these experiments, we should expect Plain Agar to rank above Sucrose Agar, which, on the basis of its peptone content, should be at the very bottom of the list. Similarly, we cannot regard sugar as the determining factor of the value of the media, because if that were true, Plain Agar, containing no sugar, should be at the bottom, instead of being second in rank. (See Table II.)

From the above table it can be seen that the results in this experiment are greatly different from those in the former experiment, particularly as regards the respective rank of all the media except the Plain and Sucrose agar. In the above experiment these two media take an equal rank at the head of the list. A very radical decrease in rank is to be noted in the case of the

Table II.
Raw Juice, Nov. 26, 1912. Incubation Period 1 Week.

Medium	Dilution	Number of Colonies						No. Bact. per cc. (+ 000)	Factor of Error
		1	2	3	4	5	6		
Sucrose Agar	1 : 25,000	76	86	100	102	90	82	2,225	± 4.14
		Average 89							
Plain Agar	1 : 25,000	92	76	102	92	92	92	2,227	± 3.47
		Average 91							
Raw Sugar Agar . .	1 : 25,000	8	3	10	6	7	8	175	± 3.03
		Average 7							
Raw Sugar Peptone Agar	1 : 25,000	22	32	31	31	25	37	750	± 2.20
		Average 30							
Raw Juice Agar . .	1 : 25,000	8	8	9	8	8	8	200	± .576
		Average 8							
Raw Juice Peptone Agar	1 : 25,000	38	46	48	41	46	54	1,125	± 2.28
		Average 45							
Molasses Agar . . .	1 : 25,000	11	12	6	8	6	9	225	± 1.05
		Average 9							
Molasses Peptone Agar	1 : 25,000	26	32	33	26	25	20	675	± 1.95
		Average 27							

Raw Sugar Agar which in the former experiment was in third place and which in the above experiment takes the lowest rank in the entire series. On the whole the presence of peptone in the media appears to have been of more value in this experiment than in the former. With the exception of the Sucrose Agar, which seems to owe its superiority as a culture medium to its favorable combination of ingredients, rather than to its peptone content, we find that the addition of peptone increased the value of the natural media in every case. It not only resulted in rendering each peptone series superior to its corresponding non-peptone series, but without a single exception gave the peptone group as a whole, a rank above the non-peptone series.

(Table III.)

In the above experiment, Plain Agar again takes the first rank, followed by Sucrose Agar, and Raw Juice Peptone Agar, which appear to be of about equal rank. If, however, we take into consideration the factor of error in both cases, and regard each as plus, we find that there is a plus error of 7.67 in the Raw Juice Peptone series, which would be more than sufficient to give it a rank below sucrose agar. What was noted in the former experiment regarding the influence of peptone, also applies in the above table. An interesting fact in the above experiment is the high rank taken by Molasses Peptone Agar, which in the first experiment, was next to the bottom of the list, and in the second experiment in fourth place, and in this one it attained third rank in the series.

Table III.
Raw Juice, Nov. 26, 1912. Incubation Period 1 week.

Medium	Dilution	Number of Colonies						No. Bact. per cc. (+ 000)	Factor of Error
		1	2	3	4	5	6		
Sucrose Agar	1 : 25,000	50	64	62	82	92	50	1,675	± 6.98
		Average 67							
Plain Agar	1 : 25,000	100	100	82	86	86	72	2,200	± 4.43
		Average 88							
Raw Sugar Agar . .	1 : 25,000	6	5	6	5	6	6	150	± .816
		Average 6							
Raw Sugar Peptone Agar	1 : 25,000	34	24	30	20	28	27	675	± .624
		Average 27							
Raw Juice Agar . .	1 : 25,000	12	10	11	11	12	10	275	± .365
		Average 11							
Raw Juice Peptone Agar	1 : 25,000	66	114	108	41	40	40	1,700	± 14.65
		Average 68							
Molasses Agar . . .	1 : 25,000	12	12	12	18	17	10	325	± .412
		Average 13							
Molasses Peptone Agar	1 : 25,000	38	60	30	35	30	27	925	± 4.94
		Average 37							

These experiments are representative in their results, of many others of a similar nature that have been made in determining the most favorable medium for the estimation of the microorganisms in raw juices. It appears from these results that either Sucrose Agar (according to Smith's formula) or Plain Agar can be used to equally good advantage for these determinations, and that media prepared from the natural products are less reliable for this purpose. The advantages of Plain Agar which contains no sugar seems at first to be difficult to explain, as does the superiority of the synthetic over the natural media. The superiority of Plain Agar is perhaps to be attributed, in great part, to the heterogeneous nature of the flora of fresh raw cane juice. The microorganisms occurring in these products, come from a number of sources, viz., from the rind of the cane, from the dirt attached to it, and from the air, and dust, and the mill. As a result of this mixed contamination, a medium containing no sugar might be just as well suited to the requirements of the predominant species in cane juice as it would be in determining the number of bacteria in soils. The fact, too, that the composition of juices is subject to wide variations would explain the variable results with different culture media when different samples are used. The variety of the flora of juices, resulting from the infinite sources from which they may acquire the microorganisms constituting their flora, would tend to explain why the natural media could not necessarily be expected to be more favorable for the development of these species, than synthetic media.

The slight superiority of Plain Agar over the Synthetic Sucrose Agar, is confirmatory of the work of Edson, Jones and Carpenter¹⁾ on the determination of the microorganisms in maple sap. These investigations proved Plain Agar to be superior to a synthetic agar containing dextrose, for the determination of microorganisms in this product.

2.

Comparison of Media for the quantitative Determination of the Microorganisms in clarified Juice.

For the determination of the microorganisms in clarified juices, the same series of media was employed. It is to be expected that clarified juices would contain fewer microorganisms than the untreated juices, but in general it might be assumed that the relative values of the various media in the series would be the same for the two products. Previous experiments by the writer upon the number of microorganisms occurring in various sugar house products, showed that clarification tended to greatly reduce the number of microorganisms in juices. Unless this reduction materially alters the original relations between the original species, it would be expected that the medium most favorable for the development of the microorganisms in raw juices, would also be equally favorable for clarified juices.

Table IV.
Clarified Juice, Jan. 1, 1913. Incubation Period 1 week.

Media	Dilution	Number of Colonies						No. Bact. per cc. (+ 000)	Factor of Error
		1	2	3	4	5	6		
Sucrose Agar	1 : 10,000	100	80	70	90	90	100	880	± 4.77
		Average 88							
Plain Agar	1 : 10,000	90	50	70	60	80	80	720	± 6
		Average 72							
Raw Sugar Agar . .	1 : 10,000	50	40	40	30	50	55	440	± 3.13
		Average 44							
Raw Sugar Peptone Agar	1 : 10,000	50	30	45	50	50	55	460	± 3.57
		Average 46							
Raw Juice Agar . .	1 : 10,000	90	60	60	80	80	50	700	± 6.32
		Average 70							
Raw Juice Peptone Agar	1 : 10,000	95	80	85	80	90	90	860	± 2.46
		Average 86							
Molasses Agar . . .	1 : 10,000	30	40	50	45	45	45	430	± 2.82
		Average 43							
Molasses Peptone Agar	1 : 10,000	60	50	50	50	45	50	500	± 2
		Average 50							

¹⁾ Microorganisms of Maple Sap. (Bull. Vermont Stat. 167.)

In the above table it will be seen that Sucrose Agar and Raw Juice Peptone Agar rank together at the head of the series. Next in order is Plain Agar, after which comes Raw Juice Agar. The influence of peptone in this experiment is not so striking as in some of the former ones, since Raw Juice Agar ranks above other peptone-containing medium.

Table V.
Clarified Juice, Dec. 27, 1912. Incubation Period 1 week.

Culture Media	Dilution	Number of Colonies						No. Bact. per cc. (+ 000)	Factor of Error
		1	2	3	4	5	6		
Sucrose Agar	1 : 10,000	76	66	62	76	64	62	660	± 1
		Average 66							
Plain Agar	1 : 10,000	74	60	64	60	60	60	630	± 2.25
		Average 63							
Raw Sugar Agar . .	1 : 10,000	36	40	45	40	42	35	390	± 1.54
		Average 39							
Raw Sugar Peptone Agar	1 : 10,000	48	52	49	50	50	50	500	± .546
		Average 50							
Raw Juice Agar . .	1 : 10,000	50	48	50	52	48	55	510	± 1.09
		Average 51							
Raw Juice Peptone Agar	1 : 10,000	50	54	55	55	52	56	540	± .927
		Average 54							
Molasses Agar . . .	1 : 10,000	44	45	47	42	46	42	440	± .871
		Average 44							
Molasses Peptone Agar	1 : 10,000	50	52	53	52	53	54	520	± .574
		Average 52							

In this experiment Sucrose Agar again takes first rank, closely followed by Plain Agar. Raw Juice Peptone Agar drops to third place, and Molasses Peptone Agar takes a position above Raw Juice Agar which outranked it in the former experiment. What has been said of the experiments with raw juices also applies to clarified juices, for the quantitative estimation of the microorganisms in which, Sucrose and Plain Agar again seem to be superior to the other culture media. The addition of peptone seems to have increased the value of the natural media, as was found to be true in former experiments.

Chapter II.

Comparison of Media for the quantitative Determination of Microorganisms in Masseccutes.

For the determination of microorganisms in masseccutes, the same series of culture media employed for the analysis of juices was used as a basis of comparison. In masseccuite we have a product, the bacterial flora of which would be expected to be quite different from that of juices. The latter, as

we have already had occasion to note, owes its microorganisms to infection from a multitude of sources, which has a tendency to make its flora exceedingly, diverse and non-characteristic. On the other hand, massecuites are products which represent an advanced stage of the process of sugar manufacture, in the course of which a vigorous elimination of microorganisms results from the treatment incident to the heating and clarification of the juices and syrups from which the massecuite is made. The flora of massecuites therefore would be expected to be less variable than that of juices, for its flora would represent the "survival of the fittest", as regards the ability of the microorganisms to withstand the high temperatures to which they have been subjected. As a result of this process of elimination the flora of massecuites would not only be expected, to be more characteristic than that of juices, but the microorganisms constituting it, would also be expected to have acquired a special adaptability to this environment, to an extent which would give them predominance over those microorganisms which might accidentally gain access to it. Massecuites, like sugars, are not favorable to the development of microorganisms in general. Therefore it would require some special adaptation before they would serve as a favorable medium for the development of many of these forms. On this account we might be led to anticipate that the most favorable culture medium for the quantitative estimation of the microorganisms in massecuites, would be that one whose composition more nearly approximates that of the massecuite itself. Hence, it might be assumed that in this case molasses or Molasses Peptone Agar, would give better results than the other media of the series.

Table VI.
Massecuite Incubation Period 1 week. Comparison of Media.

Medium	Dilution	Number of Colonies						No. Bact. per gram	Factor of Error
		1	2	3	4	5	6		
Plain Agar	1 : 100	7	8	8	8	8	11	800	± .546
		Average 8							
Sucrose Agar	1 : 100	3	3	3	4	4	3	300	± .0812
		Average 3							
Raw Sugar Agar . .	1 : 100	4	3	3	3	3	3	300	± .0574
		Average 3							
Raw Sugar Peptone Agar	1 : 100	4	3	3	4	4	4	400	± .0812
		Average 4							
Raw Juice Agar . .	1 : 100	4	5	6	6	6	4	500	± .4
		Average 5							
Raw Juice Peptone Agar	1 : 100	3	4	5	4	5	4	400	± .316
		Average 4							
Molasses Agar . . .	1 : 100	4	4	4	4	4	4	400	± 0
		Average 4							
Molasses Peptone Agar	1 : 100	4	4	4	5	4	4	400	± .0574

In the estimation of the microorganisms in massecuites we have no previous work at all to guide us in the selection of our culture media. No investigations seem ever to have been made on the estimation of microorganisms in this product either with cane or beet sugar. Believing, however, that the requirements of the microorganisms in massecuites would be fulfilled by some one of the media of the series employed in connection with the work on juices, the same series was used in this case.

Plan of Experiment.

The dilution used in these experiments was 1 : 100, obtained by the introduction of 5 grams of massecuite into a flask containing 500 cc. of sterile water. Although great care was exercised in preventing the access of contamination from the air, this factor of error could never be entirely avoided. A sterile platinum loop was used in transferring the massecuite to the weighing dish, which had been sterilized with bichloride of mercury, subsequently washed in sterile water, and in 70 per cent alcohol, and dried in a drying oven. After thoroughly shaking the flask until its contents were entirely dissolved, one cc. portions were transferred to the plates as described in connection with the experiments on juices. The same period of incubation and temperature were employed, as in the experiment with juices.

In this experiment it will be noted that Plain Agar gave higher counts than any of the media in the series. The factor of error was small in every

Table VII.
Massecuite Sample No. 2. Incubation Period 1 week. Comparison of Media.

Medium	Dilution	Number of Colonies						No. Bact. per gram	Factor of Error
		1	2	3	4	5	6		
Plain Agar	1 : 100	33	34	30	30	29	30	31,00	± .812
		Average 31							
Sucrose Agar	1 : 100	20	18	16	16	16	14	17,00	± .853
		Average 17							
Raw Juice Agar . . .	1 : 100	72	42	42	41	35	47	47,00	± 5.28
		Average 47							
Raw Juice Peptone Agar	100	30	31	29	30	35	34	32,00	± 1
		Average 32							
Raw Sugar Agar . . .	100	13	10	11	9	14	12	1100	± 2.51
		Average 11							
Raw Sugar Peptone Agar	1 : 100	16	18	17	13	12	15	15,00	± 1.095
		Average 15							
Molasses Agar . . .	1 : 100	20	16	14	16	17	15	1800	± 1.14
		Average 18							
Molasses Peptone Agar	1 : 100	20	22	19	21	18	21	2000	± .6
		Average 20							

case, never being as much as ± 1 . The next highest count was with Raw Juice Agar, followed in third place by four media which gave equal counts. Contrary to what might have been assumed, the molasses agars took comparatively low ranks in this experiment. Equally surprising is the very low rank of sucrose agar, which was found to be of such great value in the estimation of microorganisms in juices. An interesting point in this experiment is the fact that in only one case did the addition of peptone tend to yield higher counts than the corresponding non-peptone group. This case was with Raw Sugar Peptone Agar.

The above table gives the result of an experiment on a massecuite, which had been kept for a long time, as a result of which its bacterial content is much higher than in the results given in Table VI. In the above table we find that Plain Agar does not take first place, but instead, and not readily to have been expected, Raw Juice Agar gave the highest counts. Next in order comes Raw Juice Peptone Agar, following which, and but little below it in rank, is Plain Agar. Molasses peptone agar is again in third place, and sucrose agar again takes a very low rank. In this experiment the addition of peptone did not in any case result in material benefit. In fact, in the case of the Raw Juice Agar, it seemed to have depressed rather than stimulated the development of microorganisms.

Table VIII.
Massecuite Sample No. 3. Comparison of Media.

Medium	Dilution	Number of Colonies						No. Bact. per gram	Factor of Error
		1	2	3	4	5	6		
Plain Agar	1 : 100	9	10	12	13	12	17	1200	± 1.16
		Average 12							
Sucrose Agar	1 : 100	4	6	6	4	4	4	500	$\pm .446$
		Average 5							
Raw Juice Agar . . .	1 : 100	8	7	7	6	9	7	700	± 1.415
		Average 7							
Raw Juice Peptone Agar	1 : 100	8	8	13	8	7	6	800	± 1.09
		Average 8							
Raw Sugar Agar . . .	1 : 100	5	4	5	6	6	5	500	± 1
		Average 5							
Raw Sugar Peptone Agar	1 : 100	5	5	6	6	5	5	500	$\pm .774$
		Average 5							
Molasses Agar . . .	1 : 100	7	6	7	5	5	5	600	$\pm .4$
		Average 6							
Molasses Peptone Agar	1 : 100	8	8	7	7	6	6	700	$\pm .351$

In the above table Plain Agar again ranks first in value, showing a much higher count than Raw Juice Peptone Agar, which is next in order in the series. Molasses Peptone Agar, and Raw Juice Agar rank third in the series,

followed by Molasses Agar. In this experiment the molasses media take a much higher rank than in the former experiment. Throughout the entire series of experiments the addition of peptone is shown to be unnecessary, producing little benefits as a rule, and exercising a depressing action in a few cases. From the results of the foregoing experiments, we may conclude that Plain Agar is more reliable on the whole, for the estimation of the microorganisms in masseccutes. Although in one case it took a rank below one of the natural media, its demonstrated superiority in the other experiments, and the advantage which naturally attaches to its stable composition, and ease of standardization, make it preferable for use in this connection. Whether the advantage of the Plain Agar over the natural media, particularly the molasses series, whose composition is more similar to that of masseccute, than any of the others, is due to its composition being specially favorable, or to the detrimental changes induced in the other media by their treatment, is a question that we have not endeavored to solve.

Chapter III.

1.

Comparison of Media for the quantitative Determination of Microorganisms in Sugars.

The quantitative bacteriological analysis of sugars, introduces for consideration various factors, which could well have been disregarded in our selection of media for use in connection with juices. In the latter case our attention was properly confined to a consideration of the relative values of the synthetic and natural medium, and the influence of the addition of peptone upon the latter. With sugars, on the other hand, we could not well expect to approximate natural conditions even in a culture medium which is made to conform to the natural product as nearly as possible. If we succeeded in providing a culture medium, with the same proportion of the essential ingredients of nutrition, as contained in the original sugar, we would still have reason to entertain the gravest doubts as to the suitability of our culture medium from the standpoint of its physical condition. Where it is wished to approximate in a culture medium the composition of such products as vegetable juices, molasses, milk, or even soil, the problem is simple compared to that of providing an artificial culture medium, that could be considered an approximation of the conditions represented by sugar crystals. In the above cited cases the physical condition of the natural products is susceptible of more definite determination than is possible in the case of sugars. An apparent exception is that of soils, but even then we have the advantage of being able to assume that the concentration of the moisture in which the bacteria live, is not such as to make it difficult to approximate in culture media. The composition of normal soils is such that the various substances contained in it go into solution with comparative difficulty, and as a result we doubtless have a substratum of comparatively low density. What must the case be with sugars, when the film of moisture in which the microorganisms develop, is in immediate contact with such soluble substances as sucrose, dextrose and levulose? Are these films saturated solutions, and if not, what degree of saturation do they represent? Evidently the physical condition of the culture media used for this purpose, is of unusual importance. If the film of moisture around the crystals of a certain sugar

happen to contain fifty per cent of sucrose, and the microorganisms have acclimatized themselves to this concentration, a sudden transfer to a culture medium of only 10 per cent total solids might be expected to produce injury. Not that the presence of so much sugar as was contained in the natural medium could be necessary to their nutrition, but only because they having become acclimatized to a certain density, would be likely to suffer injurious effects from osmotic action incident to the change in surroundings. Microorganisms vary in their resistance to these changes of osmotic pressure. We have varying extremes. Certain bacteria found in seawater, for example, are extremely sensitive to change in density of their surroundings. Thus, Baur¹⁾ isolated from seawater certain species of denitrifying bacteria, and Keutner²⁾ certain nitrogen-fixing species, which could not become adapted to development upon substrata of lower concentration than that of the original environment. Gran³⁾ who isolated several species of denitrifying bacteria from the North sea, experimented with the action of fresh water upon these bacteria. He found that one of these, viz., *Bact. Hensenii*, although not killed by the change, was so injuriously affected that it could not normally develop under these conditions.

There have been many similar cases where the isolation of certain species of microorganisms from a natural environment, which consisted of a very dense solution, has necessitated the use of a culture medium of a density similar to that of the original substratum. This factor, however, seems never to have been taken into account in former investigations of the bacterial content of cane sugars. Greig Smith⁴⁾ employed Plain Agar, and his 10 per cent sucrose agar for this purpose, and so did Deerr and Norris⁵⁾. The writer compared in a former investigation, the Smith sucrose agar, with plain, and Heyden (Nährstoff) agar, and found them to be of relatively equal value for these determinations. The media employed in the quantitative estimation of the microorganisms in sugars were as follows: Plain Agar, Sucrose Agar 10 per cent, Sucrose Agar 25 per cent, and Sucrose Agar 50 per cent. The titre of these media and the method used in their preparation were the same as described in connection with the experiments on juices, and massecuites. It was thought that if the density of the medium has any influence upon the development of the microorganisms occurring in sugars, that the desired conditions would be fulfilled in some one of the media of the series. In addition, however, to the purpose of supplying favorable conditions for the development of the maximum number of microorganisms occurring in sugars, the use of the media of high densities, should tend to give us a more adequate conception of the potentially active species in sugars. The use of Plain Agar, or a 10 per cent sucrose agar, conduces to the development upon the plates, of species which have no causative connection with the deterioration of sugars, and which may be entirely in active in this foreign environment. Such species may exist in sugars in the form of spores, or as vegetative cells, which gain access to the sugars in the air, or from other sources of infection during the process of transferring the samples to the dilution flask. These species, which may be entirely non re-

1) Kieler Wiss. Meeresuntersuch. Bd. 6. 1901.

2) Kieler Wiss. Meeresuntersuch. Bd. 8. 1904.

3) L a f a r , Handb. d. techn. Mykol. Bd. 1. p. 337.

4) Loc. cit.

5) Loc. cit.

presentative of the typical flora of sugars, would be prevented from developing on the media of higher density, or at least they would not have an equal chance in competition with those species that have become so well adapted to development upon sugar crystals as to enable them to induce an active decomposition of them. Whether the limit of concentration of sucrose in the series, which was 50 per cent, was sufficiently high to offer the most favorable condition for the development of the microorganisms in sugars, is a question regarding which we have little definite data to guide us. Without definite knowledge of the concentration of the moisture films of sugars, in which the microorganisms develop, we can only infer what concentration would be most likely to furnish the most favorable conditions for their development in artificial culture medium. Investigation by the writer of the amount of concentration of sugar solutions in which certain types of bacteria isolated from sugar could develop, established the limit of 60 per cent as the maximum concentration for these species, and 20 per cent was found to be the optimum. We should expect the microorganisms which developed on the 50 per cent sucrose agar to be capable of developing in the average raw sugar, and those that could not develop under these conditions, would hardly be expected to be primarily concerned in the active deterioration of these products. On this basis the rate of development upon this medium, should be a fairly good criterion of the bacterial deteriorative potential of a sugar, and hence its use should furnish more valuable data on the question than would be expected from the use of low density media, upon which many inert species, would have an equal if not better chance for development.

Plan of Experiments.

The dilutions employed for these experiments were, 1:25, 1:50 and 1:100. The first dilution was made by weighing out 20 grms. of sugar, and dissolving it thoroughly in 500 cc. of sterile water. The 1 to 50 dilutions were made by the use of ten grms. of sugar in 500 cc. of water, and the 1:100 with 5 grms. of sugar to the usual volume of water. The flasks were thoroughly shaken until the sugar had all dissolved, after which 1 cc. portions were

Table IX.
Estimation of Microorganisms in Sugars.
Sugar No. 33. Date of Inoculation May 6. Date of Count May 15.

Medium Employed	Dilution	Number of Colonies						No. of Micro-organisms	Factor of Error
		1	2	3	4	5	6		
Plain Agar	1 : 25	34	35	41	33	35	35	900	± 1.166
	20 grms.500	Average 36							
Sucrose Agar 10 % .	1 : 25	30	30	21	26	34	22	675	± 2.07
	20 grms.500	Average 27							
Sucrose Agar 25 % .	1 : 25	44	42	35	44	41	44	1,050	± 1.415
	20 grms.500	Average 42							
Sucrose Agar 50 % .	1 : 25	55	52	54	54	52	53	1,325	± .509
	20 grms.500	Average 53							

transferred to the plates, as in the other experiment. The incubation period, and method of counting the colonies, was the same as described in former experiments.

The results given in the above table shows that the value of the media increases with their concentration. The 50 per cent sucrose agar gave higher results than any of the others, followed by 25 per cent sucrose agar. Plain Agar, however, gave higher results than 10 per cent sucrose agar, which agrees with the results obtained with the use of these media for the determination of the microorganisms in massecuites. It might ordinarily be supposed that if the degree of concentration of sugar was the cause of the superiority of the 25 and 50 per cent sucrose agar, that for the same reason the 10 per cent sucrose agar should rank above the Plain Agar. The explanation of this apparent inconsistency, however, is perhaps that the Plain Agar offered more favorable conditions for the adventitious species in the sugar, while the ten per cent sucrose agar was at the same time not of sufficiently high density to have admitted of the development of those species which constituted the predominant flora developing upon the more concentrated sucrose media. The colony counts in the plates of the 25 and 50 per cent sucrose agar, would ordinarily be expected to furnish a more reliable index of the active flora of that sugar, than the counts made upon the Plain or 10 per cent sucrose agar. It might certainly be assumed that a larger per cent of the species developing on the 50 per cent sucrose agar, would be active in the film of moisture around sugar crystals, than those which developed only on the media of lower density, and which were prevented from developing by the higher density of the 50 per cent sucrose medium.

Table X.
Estimation of Microorganisms in Sugars.
Sugar No. 43. Date of Inoculation May 13, 1913, 5 p. m.

Medium Employed	Dilution	Number of Colonies						No. of Micro-organisms	Factor of Error
		1	2	3	4	5	6		
Plain Agar	1 : 25	9	12	22	11	12	11	325	± 1.87
		Average 13							
Sucrose Agar 10 % .	1 : 25	13	12	12	11	10	10	275	± 5.09
		Average 11							
Sucrose Agar 25 % .	1 : 25	30	30	27	22	30	32	700	± 1.46
		Average 28							
Sucrose Agar 50 % .	1 : 25	45	44	44	44	46	45	1,125	± .4

In the above table the results with another raw sugar are given. These results are practically the same as in the preceding table. The relative rank of the media constituting the series is the same. This sugar contained fewer microorganisms than the one used in Experiment IX. The superiority of the 50 per cent sucrose agar over the 10 per cent or the Plain Agar, is here more striking than in the former experiment. (Table XI.)

The results given in the above table show the same relative rank of the media in the series, as previously noted. The fifty per cent, sucrose agar

Table XI.
Estimation of Microorganisms in Sugars.
Sugar No. 46. Date of Inoculation June 3, 1913.

Medium Employed	Dilution	Number of Colonies						No. of Micro-organisms per gm.	Factor of Error
		1	2	3	4	5	6		
Plain Agar	1 : 100	18	18	18	20	22	16	1,900	± .854
		Average 19							
Sucrose Agar 10 % .	1 : 100	19	18	18	18	16	16	1,700	± .547
		Average 17							
Sucrose Agar 25 % .	1 : 100	23	24	26	25	26	26	2,500	± .509
		Average 25							
Sucrose Agar 50 % .	1 : 100	38	56	40	40	45	40	4,300	± 2.74

gives the highest count, and Plain Agar takes a rank above the ten per cent sucrose agar. In all of these experiments the difference in colony development on the various media is very striking. It is indeed very significant that the media of highest density should prove so far superior to the low density media, previously employed for these determinations. Assuming that only those species can develop in the fifty per cent sucrose agar, which have become adapted to the conditions offered by sugars, and the that growth on the Plain and ten per cent sucrose agar represent certain species which have no vital relationship to the decomposition of sugars, and are foreign to the characteristic flora of these products, we may conclude that there are more active than inert microorganisms in these products.

Table XII.
Estimation of Microorganisms in Sugars.
Sugar No. 18. Plated June 6, 1913.

Media Employed	Dilution	Number of Colonies						No. of Micro-organisms per gm.	Factor of Error
		1	2	3	4	5	6		
Plain Agar	1 : 50	10	10	9	9	13	10	500	± .69
		Average 10							
Sucrose Agar 10 % .	1 : 50	10	19	16	16	21	19	850	± 1.58
		Average 17							
Sucrose Agar 25 % .	1 : 50	21	20	25	24	29	24	1200	± 1.304
		Average 24							
Sucrose Agar 50 % .	1 : 50	31	34	34	31	30	30	1600	± .774
		Average 32							

The above table gives the results of the analysis of Sugar No. 18, which contains fewer microorganisms than that given on the former table. Although the fifty per cent sucrose agar again ranks first, the margin between it and

the twenty-five per cent sucrose agar is much narrower than in the former experiment. Associated with this decrease in comparative value of the fifty per cent sucrose agar, is the higher rank of the ten per cent sucrose agar, which for the first time in the experiments ranks above Plain Agar. The smaller margins between the different media in the series, may indicate a larger per cent of inert bacteria in this sugar than in the sugars previously analyzed.

Table XIII.
Comparison of Media.
Sugar No. 12. June 25, 1913.

Medium	Dilution	Number of Colonies						No. Micro-organisms per gm.	Factor of Error
		1	2	3	4	5	6		
Plain Agar	1 : 100	16	28	45	51	46	25	3,500	± 5.74
		Average 35							
Sucrose Agar 10 % .	1 : 100	32	34	32	34	30	30	3,200	± 2
		Average 32							
Sucrose Agar 25 % .	1 : 100	46	46	50	50	48	50	4,800	$\pm .812$
		Average 48							
Sucrose Agar 50 % .	1 : 100	52	52	50	56	54	52	5,200	$\pm .894$
		Average 52							

Table XIV.
Sugar No. 27. June 25, 1913.

Medium	Dilution	Number of Colonies						No. Micro-organisms per gm.	Factor of Error
		1	2	3	4	5	6		
Plain Agar	1 : 100	18	17	40	17	20	22	2,200	$\pm .361$
		Average 22							
Sucrose Agar . 10 %	1 : 100	21	20	21	22	25	20	2,100	$\pm .793$
		Average 21							
Sucrose Agar 25 % .	1 : 100	35	36	35	36	35	33	3,500	$\pm .446$
		Average 35							
Sucrose Agar 50 % .	1 : 100	45	47	44	47	42	49	4,600	± 1
		Average 46							

These two tables giving the results of analyses of sugars No. 12 and 27 respectively, show the same relative rank of the media in the series, as in the previous experiments.

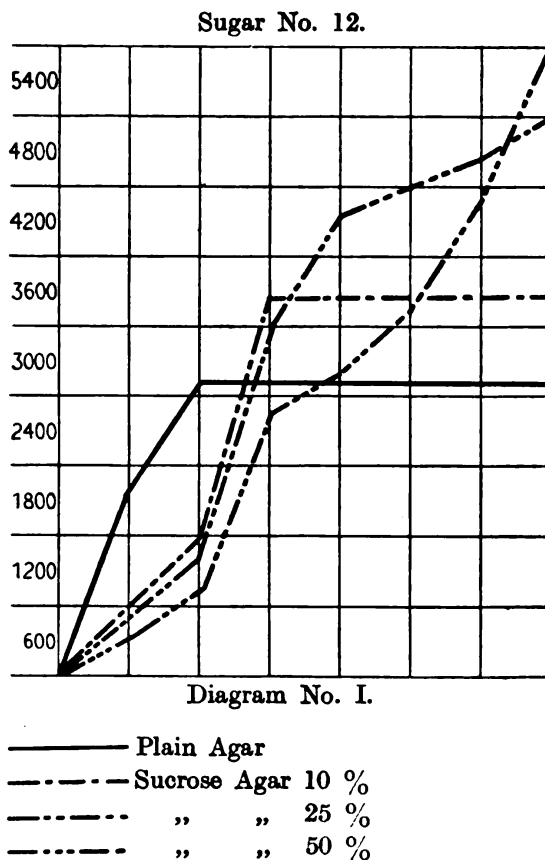
From these experiments we may conclude that the value of a culture medium for the quantitative determination of the microorganisms in sugars, is to a large extent proportionate to its density, and with the exception of the superiority of the Plain Agar over the ten per cent

sucrose agar, the value of the media in the series seems to increase in direct proportion to the amount of sucrose that they contain. In further consideration of the fact that the colonies developing upon fifty per cent sucrose agar, are probably more representative of the active species of microorganisms in sugar, we are safe in assuming that the use of this medium will afford us a more valuable index of the potentially active flora of these products. On this basis the fifty per cent sucrose agar seems best adapted to these determinations.

2.

Determining the Time Factor for the complete Development of the Microorganisms in Sugars upon the various Media in the Series.

The time factor in the quantitative estimation of microorganisms in any product is of great importance. Until the time required for the maximum colony development to take place in the culture plates, is definitely determined, the period of incubation must be arbitrarily fixed. Whether an incubation period of three days, one week, or ten days is necessary in any given instance, is a question that has to be decided by special experiment. In soil investigations a ten days incubation period is usually selected, while in water investigations an eight day period is used. In the experiments on the quantitative determination of microorganisms in sugars, it was found that the media which gave the highest count, were the ones upon which the rate of growth was slowest. A one week's incubation period was employed in these experiments, and the difference in rate of development in the different media in the series was very striking. The maximum development on the Plain and Sucrose Agar, was usually attained at the end of the second day, while the full seven day period was usually required for the maximum development in the fifty per cent sucrose agar. Gage and Adams¹⁾ in their investigation of methods for the quantitative determination of the bacteria in water and sewage found that the rate of development was different on the various media employed by them.



Plan of Experiments.

In order to determine the relative rate of development on the different media of the series used in the estimation of microorganisms in sugars the

¹⁾ Studies of Media for the Quantitative Estimation of Bacteria in Water and Sewage.

following experiments were conducted. The sugars were plated out as in the previously described experiments and incubated at the usual temperature. Daily counts were then made of the colonies on the plates, and the rate of

growth plotted on the following diagrams:

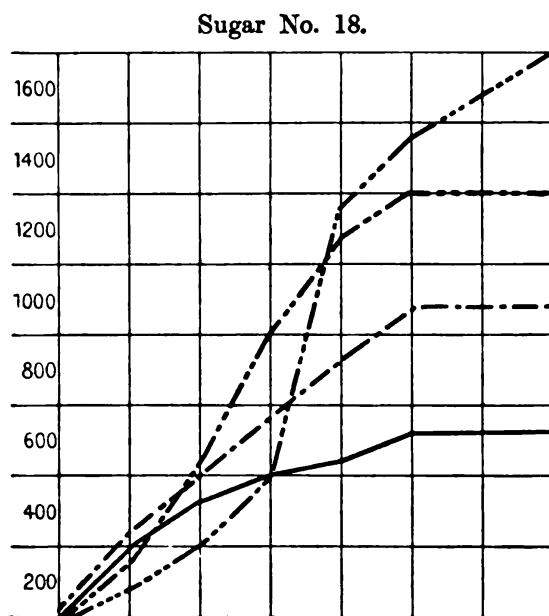


Diagram No. II.

occurs about the third day, is followed by a period of retarded growth from the fifth to the end of the seventh day.

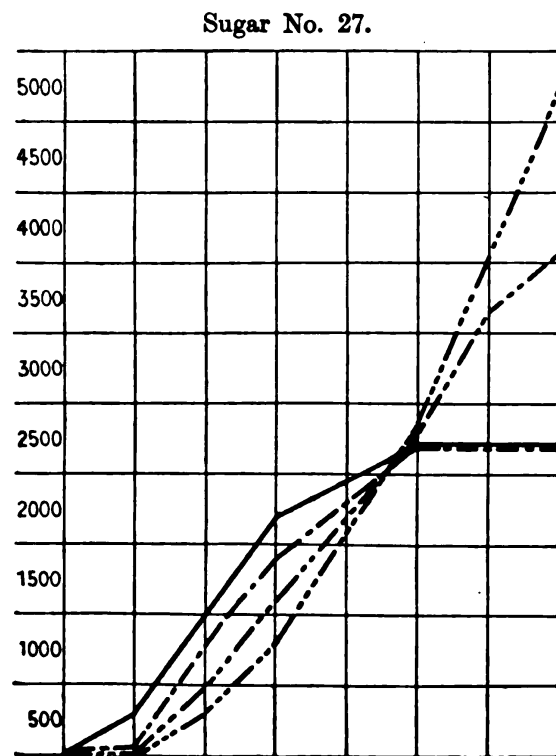


Diagram No. III.

In the above diagram it will be noted that the complete development was reached with Plain Agar at the end of the second day, while the full seven day period was required for the fifty per cent agar. The rate of development appears to be inversely proportionate to the concentration of the culture medium. An interesting point in connection with the rate of growth on the fifty per cent sucrose agar is the apparent acceleration of rate of growth after the third day. It indeed appears as if this acceleration might be due to a process of slow adaptation to the medium. In the twenty per cent sucrose agar the period of acceleration, which also

From the above diagram it will be noted that the rate of development is most rapid on Plain Agar, although its maximum is not attained as quickly here as in the former experiments, where it was reached within two days. In the above experiment it will be noted that a slight increase took place between the fourth and fifth day. The period of accelerated growth appeared earlier in the fifty per cent sucrose agar, than in the former experiment, and the acceleration was also greater. The rate of growth on the ten per cent sucrose agar was also slower than in the previous experiment.

In the above diagram the initial rate of development on Plain Agar was slower than in the previous experiment, which was also true of the other media for the first day. With the exception of Plain Agar no development

took place on any of the media until the second day. The relative rate of growth of the different media was the same as in former experiments.

In the above diagram the rate of growth is uniformly more rapid in all of the media of the series than in the former experiments. In this experiment the maximum development was practically reached in all of the media within three days. The rate of growth in all of the sucrose agars was practically the same, being slightly slowed in the fifty per cent sucrose agar.

The above diagram shows the rate of development of the microorganisms of a sugar, which has a lower microbial content than those employed in the previous experiment. The rate of development was most rapid on Plain Agar, being completed within three days. The development on fifty per cent sucrose agar was more uniform than in previous experiments, showing no initial period of retardation, as in previous experiments.

The above diagram, showing the rate of development upon the different media of the microorganisms in sugar No. 46, which is a highly infected sugar, shows a slightly different form of curve for the fifty per cent sucrose agar, than shown in the previous diagrams. The acceleration is very high from the third to the fifth day, during which period a development takes place, which equals in rate that of the Plain Agar. The rate of development on Plain Agar is considerably slower than in the average case, requiring six days for its full completion, although practically completed within five days. From these experiments we conclude that the rate of de-

Sugar No. 33.

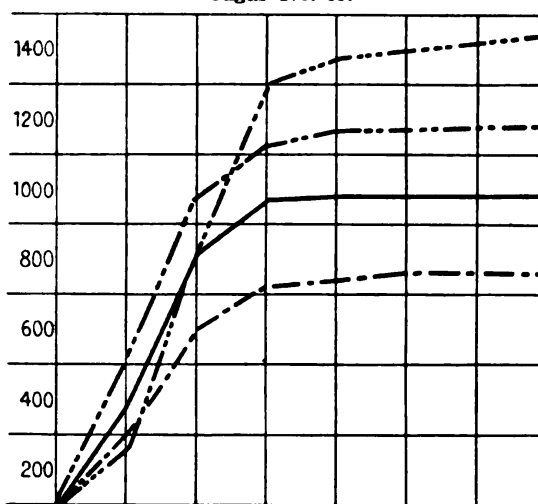


Diagram No. IV.

Sugar No. 43.



Diagram No. V.

Sugar No. 46.

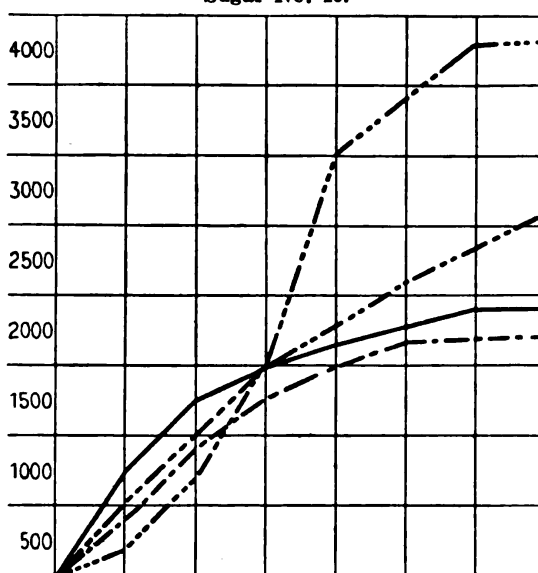


Diagram No. VI.

velopment is slowest on the fifty per cent sucrose agar, and most rapid on the Plain Agar. The development on the fifty per cent sucrose agar is usually characterized by an initial period of retardation, followed by a period of acceleration, usually equal in point of duration with the first, and again followed by a depression period of shorter duration. A summary of the relative rate of development of the microorganisms in sugars upon the different media is given below:

Table showing relative Rate of Growth in various Culture Media.
Per Cent. Total Development in 48 Hours.

Media	Sugar No. 33	Sugar No. 18	Sugar No. 46	Sugar No. 43	Sugar No. 12	Sugar No. 27	Averages	Per cent. Total Development in 48 Hours
Plain Agar	75 %	66.2/3	66.66	85	100	45.4	Plain A.	73 %
Suc. Agar 10 %	75	50	50.00	89.6	37.5	33.33	S. A. 10 %	55.9 %
Suc. Agar 25 %	75	33.331/3	40.0	29.0	22.9	14.2	S. A. 25 %	35.8 %
Suc. Agar 50 %	66.2/3	12.5	14.0	30.0	15.2	8.2	S. A. 50 %	24.4

3.

Influence of Titre of Medium upon its Value for the quantitative Determination of Microorganisms in Sugars.

It is well known that the titre of a culture medium is a very important factor in determining its value for any given purpose. In general it is assumed that most bacteria thrive best in a neutral or slightly alkaline medium, and upon this assumption culture media are generally made to conform to the standard of + .5 cc. Fullers scale. This reaction is equivalent to such an acidity as will require .5 cc. of a normal alkali to render 100 cc. of the medium, neutral to phenolphthalein. The development of yeast is supposed to be most favored by a degree of acidity, which is unfavorable to most species of bacteria. But with yeast it is probable that the acid owes its benefits to the fact that it tends to prevent the invasion of harmful bacteria, rather than to its direct action upon the yeasts. It is certain that there are many variations from this general rule for both classes of microorganisms. Thus we know that the acetic acid bacteria become acclimatized to a degree of acidity to which other species of bacteria can not adapt themselves. On the other hand, there are certain yeasts, for example, which can only tolerate a comparatively low acidity. Thus the species *Saccharomyces guttulatus*, described by Wilhelmi¹⁾ is especially sensitive to acid and cannot develop in an acidity higher than 0.5 per cent Hcl. Schipin²⁾ described a *Koumiss bacillus*, which developed better on an acid than on a neutral medium. Gottheil³⁾ isolated several species of aerobic soil bacteria which developed best in acid soils. Ellis⁴⁾ showed

¹⁾ Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 4. 1898. p. 305.

²⁾ Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 6. 1900. p. 775.

³⁾ Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 7. 1901. p. 430.

⁴⁾ Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 33. 1903. p. 1.

that the *Micrococcus ureae* is particularly susceptible to very weak acids, while Matzuschita¹⁾ found many anaerobes that could develop in media with comparatively strong alkaline reactions. The optimum titre of culture media, however, may vary with the same species of bacteria, depending upon the composition of the substratum. Thus A. Fischer²⁾ found the *Bacillus coli* and *Bacillus pyocyaneus* developed equally well in an acid or alkaline medium containing a dextrose asparagin solution, while the *Bacillus typhosus* and *Bacillus subtilis* developed better when the reaction of the medium was rendered alkaline, and the cholera bacillus did not develop at all as long as the reaction was slightly acid. The influence of the titre of the medium was found to be quite different, however, when the same species were grown in a glycerine ammonium chloride solution. In this solution the *Bacillus coli* and *Bacillus subtilis* developed equally well when the reaction was either acid or alkaline, the *Bacillus pyocyaneus* grew better when the reaction was alkaline and the cholera bacillus did not develop at all as long as the medium was even slightly acid.

Previous investigations upon the influence of the titre of the medium upon the gum forming species of bacteria in sugar, showed that their activities were favored by a neutral or slightly alkaline solution. Greig Smith³⁾ showed this to be true in his investigation, and this observation was also made by Noel Deerr and Norris⁴⁾, and also by the writer⁵⁾.

Plan of Experiments.

In these experiments the media employed was the 50 per cent sucrose agar, similar in composition to that which was used in the previous experiments. Its titre was corrected before sterilization, and was again determined just as the media was ready to be poured into the plates.

Table XV.
Relative Growths on Media of Varying Titrations.
Sugar No. 28.

Media Series	Dilution	Titre	Number of Colonies						No. of Micro-organisms	Factor of Error
			1	2	3	4	5	6		
A	1 : 100	+ .4 cc.	40	36	38	44	48	42	4,100	± 1.733
			Average 41							
B	1 : 100	Neutral	92	62	58	80	70	30	7,300	± 4.87
			Average 73							
C	1 : 100	— 1 cc.	26	26	20	26	36	26	2,600	± 2.122
			Average 26							

From the above table it can be seen that the greatest development of microorganisms took place in Series B, where the reaction was neutral, than

¹⁾ Arch. f. Hyg. Bd. 43. 1903. p. 267.

²⁾ Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 27. 1894. p. 163.

³⁾ Loc. cit.

⁴⁾ Loc. cit.

⁵⁾ Bull. La. Exper. Stat. 125. p. 52.

in the other series. The development was also least in the alkaline series.

Table XVI.
Sugar No. 29.

Media Series	Dilution	Titre	Number of Colonies						No. of Micro-organisms	Factor of Error
			1	2	3	4	5	6		
A	1 : 100	$\pm .4$ cc.	52	48	38	36	32	35	4,000	± 3.25
			Average 40							
B	1 : 100	Neutral	66	70	60	60	60	65	6,400	$\pm .489$
			Average 64							
C	1 : 100	— 1 cc.	12	18	28	30	20	30	2,300	± 3.03
			Average 23							

The above table is very similar in its results, to the other, and shows a great advantage in favor of the neutral series. Evidently the requirements of the microorganisms in sugar are best fulfilled in a medium of neutral or slightly acid reaction. They seem in fact to be retarded by an alkaline reaction. It seems likely that the density of the culture medium may have accentuated this influence of its titre, for it seems improbable that as slight acidity as + 4 cc. should prove so much less favorable for that development of the microorganisms than in the neutral reaction. It is probable that the composition of the culture medium affected the action of the acids, or alkali to a greater extent than would have been true if the medium had been of a different composition.

4.

The Application of the Methylene Blue Reduction Method to the Determination of Microorganisms in Sugar.

The value of any analytical method for use in industrial work, depends not only upon its accuracy but also upon the facility with which it can be conducted. For this reason it was thought to be of great importance in connection with the investigation of methods for the quantitative determination of microorganisms in sugars, to endeavor to apply some method of analysis which could be carried out in a shorter period than is required by the plate method. In recent years much attention has been given to the utilization of the reducing power possessed by bacteria, as a means of determining their numbers. One of the most conspicuous examples of the application of this method, is that which has been successfully employed in the quantitative determination of bacteria in milk. This method¹⁾ consists in grading the quality of milk by the time required for it to reduce a certain amount of standard solution of methylene blue, and is carried out as follows: A methylene blue solution is prepared according to the formula of Wichern, which consists of

Methylene Blue (Gubler, Leipzig) 1.0 gm.
Sodium chloride 8.5 gms.
Water, dist. 1000 cc.

¹⁾ Fred, E. B., A study of the quantitative Reduction of Methylene Blue. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 35. 1912.)

One cc. of this solution is added to 10 cc. of fresh milk, and the surface then covered about 2 cm high with paraffin. The tubes are then placed in an incubator and the time required for their decolorization is noted. Control tubes containing milk that has been sterilized are kept as a check. The milk is graded as follows:

Good	Fair	Bad	Very Bad
30—7 hrs.	7—2 hrs.	2— $\frac{1}{4}$ hr.	$\frac{1}{2}$ — $\frac{1}{4}$ hr.
1000—500,000	500,000—2,000,000	15,000,000	10—15,000,000

By titrating the milk containing the methylene blue against a standard titanium chloride solution, the time required for reduction can be determined before the action has been completed.

There are certain factors that would tend to make this method inapplicable to sugars, which may be mentioned as follows: 1. The sugar itself would exercise some reducing action on the stain; 2. The flora of sugars is not composed of strongly reducing species and its reducing power may not be proportionate to its infection. In testing this method the plan was as follows. Five grams of the sugar to be tested were added to 10 cc. of water to which .2 cc. of the standard methylene blue had been added, and the mixture thoroughly shaken until the sugar had entirely dissolved. A paraffin layer about 2 cm high was poured over the tube. The control tubes were similarly treated with the exception that about .1 cc. of formaldehyde was added. These controls never showed any appreciable decolorization, so it seems that the sugar itself exercised comparatively little reducing power upon the stain. The tubes were incubated at a temperature of 35° C. and plates were made of the same sugars, in order to compare the two methods of determination.

Table XVII.
Methylene blue Reduction.

Sample	No. of Microorganisms per gram. 50 % Agar	Time of Reduction	Control
No. 12	5,200	36 hours	N R
No. 27	4,600	36 hours	N R
No. 18	1,600	36 hours	N R
No. 46	4,300	24 hours	N R

From the above table it will be seen that the number of microorganisms in sugars as determined by the plate method, and the time required for the reduction of methylene blue, seem directly instead of inversely proportional. The sugar which has the largest number of microorganisms should reduce the stain in a shorter period of time, but we find in some cases, that the reverse of this is actually true. The explanation of this fact is, no doubt, that the predominant species of some sugars do not reduce the stain, and this variation in the reducing potential of the flora of different sugars leads to the discordant results above noted. In many cases it was found that the methylene blue was precipitated from the solution without being reduced at all. There was never any difficulty in keeping the control tubes free from decolorization, but the variation in the time of reduction was found to be so entirely independent of the extent of the infection of sugars, as determined by the plate method, that this method was finally abandoned. Cer-

tain modifications of the method might perhaps render it more applicable to be used in this connection, but it is highly improbable that the factors ever could be eliminated to an extent that would make it reliable for this work. The use of a smaller quantity of sugar for the inoculation of the methylene blue solution might obviate some of the difficulties, but in doing so the time of reduction would be proportionately prolonged. Only .2 cc. of the standard methylene blue solution was used, and this was found to be the very minimum amount that would give sufficient color to the solution. The selection of the proportion of 5 grams of sugar to 10 cc. of solution was made on the same basis as that which led to the use of fifty per cent agar as a culture medium for the determination of microorganisms in sugars. It was thought that the rate of development of microorganisms in this concentration, would be more representative of their ability to develop upon sugars, and on that account would likely yield a more trustworthy idea of the active flora than would a less concentrated solution.

5.

Development of the Microorganisms of Sugars in Solutions of varying Densities.

In our experiments with the relative values of various culture media for the quantitative estimation of the microorganisms in sugars, results were obtained which appear contrary to previously ascertained facts regarding the optimum concentration of sucrose for the development of the species of sugar bacteria previously studied. In the investigation of the deterioration of sugars, the writer¹⁾ found the optimum concentration of sucrose for the microorganisms studied, to be twenty per cent and the maximum between fifty and sixty. This maximum agrees with that found by R i t s e r t²⁾ for his *Bacterium gummosum*. Unless the influence of concentration is very different in solid culture medium from that which is exercised in solutions, we should expect the same species to be affected similarly in both cases. If the influence of fifty per cent sucrose agar on the development of the microorganisms of sugars, is the same whether it be in a fluid or semi-solid state, then how can we explain the superiority of fifty per cent sucrose agar over the media of lower concentration? There are two hypotheses that may be offered to explain this apparent inconsistency in results. They may be given as follows: 1. assuming that the action of a given concentration would be the same, whether it exists in the form of a solid or liquid culture medium, the objection might properly be raised as to whether the concentration of the sucrose agar medium was as high as it was supposed to be. We might expect the surface of this medium to retain some hygroscopic moisture from the atmosphere, and as a result the microorganisms developing on the plates might in reality be surrounded by a lower density solution than would be indicated from the original composition of the medium; 2. If the density of the medium remains constant, and the above objection is irrelevant, then we might expect the difference to be due to the fact that the development represented in the two cases might not be composed of the same species, but of two different groups. If there were one group which had an optimum concentration of 20 per cent sucrose, and another and larger group whose optimum was 50, then we might expect a greater development on the fifty per cent than on the ten or twenty-five per cent

¹⁾ Loc. cit.

²⁾ Ber. d. Deutsch. pharmazeut. Gesellsch. Bd. I. 1891. 389—390.

medium. Or the same results might be obtained if both groups were equal in numerical strength, but with the difference that only the group which predominated upon the 10 per cent sucrose agar plate could also adapt itself to development in the optimum concentration of the other group. This would result in the fifty per cent sucrose agar plate nourishing a part of both groups, and the 10 per cent sucrose agar nourishing only one, which if proven to be a correct hypothesis, would explain the superiority of the former medium.

Obviously, the only means of satisfactorily explaining this interesting point is by an investigation of the development of the microorganisms of sugars in solutions of varying concentrations.

Plan of Experiment.

For this purpose, ten, twenty, five and fifty per cent sucrose solutions were made according to the formula of Greig Smith. Their preparation was carried out in this case, just as previously described in connection with other experiments. Two hundred cc. of these solutions were poured into three hundred cc. Erlenmeyer flasks and sterilized in an Arnold sterilizer. The sterile solutions were next inoculated as follows: Forty grams of the sugar to be used were dissolved in sterile water and the solution made up to a 1000 cc. making a dilution of 1 : 25. Ten cc. of this solution was next transferred with a sterile pipette into another flask containing 200 cc. of sterile water, making a dilution of 1 : 500. Ten cc. portions of this dilution were then used to inoculate the flasks containing the three culture solutions. The experiments were made in triplicate, three flasks of each solution being inoculated with the same sugar. The factor of error was determined for each single determination. The medium employed for the quantitative determination of the microorganisms in the sugars was the twenty-five per cent sucrose agar of the same composition as that which had been employed in the previous experiments. The selection of a culture medium for these determinations introduced the very perplexing question of which concentration of sucrose to employ. Should the determinations be made in each case with a medium similar in composition to the solution from which the microorganisms are transferred? If so, then we should use a 10 per cent sucrose agar for the determination of the microorganisms in the corresponding solution, and similarly use twenty-five and fifty per cent sucrose agar for the other solutions in the series. It would seem that the most favorable conditions for the development of the microorganisms occurring in any of the solutions could best be supplied in a culture medium of exactly the same composition as the original. But here the difficulty arises of introducing two variables into the equation, for it would then be a test not only of the most favorable solution, but also of the most favorable solid culture medium. We could not tell under the conditions imposed by the plan of the experiment, whether a result was referable to one or the other of these factors. Evidently the purpose of the experiment requires the use of one culture medium for the quantitative determination of all three solutions. Since one common medium is to be used for the entire series, its composition should represent, as nearly as possible, an average of the three solutions composing the series. With this in view the twenty-five per cent sucrose agar was selected as the medium for the determinations. After the flasks were inoculated as previously described, their contents were thoroughly mixed by repeated shaking, and

one cc. portions were introduced into sterile plates, upon which melted agar was poured. The plates and flasks were then placed in the incubator. After one week's incubation at 35° C. the plates were counted and a second determination was made of the number of microorganisms* that had developed in the different solutions. In order that the results might be as nearly representative of the average sugar as possible, composite samples were used instead of individual sugars. These composites were made by taking equal amounts of twenty or more sugars and thoroughly mixing them in a beaker, after which they were put in a flask, and kept free from dust by a cotton plug.

Table XVIII.

Table showing relative Development of Microorganisms of Sugar, in Solutions of varying Concentration.

Inoculating Material.
Sugar No. 12.

No of Plate	A. 10 %					
	Initial Count Average 3 Flasks			One Week's Incubation Average 3 Flasks		
	Dilution	No. of Colonies	Factor of Error	Dilution (+ 000)	No. of Colonies	Factor of Error
1	—	42	± 9.85	1000	10	± 1.14
2	—	54	± 8	1000	12	± 3.32
3	—	50	± 7.55	1000	11	± .706
4	—	51	± 3.87	1000	15	± 2.45
5	—	53	± 8.60	1000	10	± 2.34
6	—	53	± 3	1000	13	± 4.36
		± 1.815	± 6.82		± .316	± 2.38
	Average No. colonies 50.			Average No. colonies 12.		
	,, No. Microorg. per cc. 50.			,, No. Microorg. per cc. 12,000,000.		
B. 25 %						
1	—	58	± 1.73	1000	13	± 1.73
2	—	68	± 2.0	1000	13	± 1.73
3	—	68	± 8.55	1000	13	± 2.45
4	—	67	± 11.11	1000	13	± 3.74
5	—	66	± 10.9	1000	13	± 1.41
6	—	65	± 5.57	1000	13	± 1.41
		± 1.55	± 6.64		± 0	± 2.08
	Average No. colonies 65.			Average No. colonies 13.		
	,, No. Microorg. per cc. 65.			,, No. Microorg. per cc. 13,000,000.		
C. 50 %						
1	—	50	± 13.68	1000	23	± 1.73
2	—	47	± 3.0	1000	23	± 1.25
3	—	49	± 8.54	1000	25	± .4
4	—	50	± 49.4	1000	25	± .707
5	—	60	± 48.7	1000	20	± .4
6	—	42	± 6.75	1000	25	± 2.81
		± 2.68	± 12.7		± .836	± 1.21
	Average No. colonies 50.			Average No. colonies 23.		
	,, No. Microorg. per cc. 50.			,, No. Microorg. per cc. 23,000,000.		

From the above table it will be noted that the development in series C, was greater than in either A or B. The relative development of microorganisms in the three solutions was similar to the results obtained in the comparison of the value of media of different densities for the quantitative estimation of microorganisms in sugars. These results tend to show that the superiority of the sugar solutions of high concentrations over the lower ones, is due to the more favorable conditions for development offered by the former. The advantages offered by the fifty per cent sucrose solutions, as shown in the above table, must be due to the same cause that made the fifty per cent sucrose agar give the highest count for sugars. This cause, moreover, must be that the density of the medium in both cases, is more conducive to the development of the predominant species in the sugars used. That this density is more favorable, is obviously due to the fact that it more closely approximates the natural conditions to which the microorganisms have become adapted. But in accepting this theory as to the cause of the superiority of the higher density media, for the development of the microorganisms in sugars, we are again confronted with the apparent contradiction of the results of a previous investigation in which this concentration was found to be the maximum at which the species which were then studied were able to develop. The nature of the development of the microorganisms in each of the solutions, however, was so different as to attract attention, and this observation incidentally led to a solution of the problem. In the ten per cent sucrose solution, the typical development was that of the gum forming bacteria, which resulted in the solutions taking on a very opaque or even milky appearance. This appearance of the solution was typical of the development of the gum forming species previously investigated by the writer, and which were generally regarded as constituting the active flora of sugars. In the twenty-five per cent solutions, the predominant fermentation differed from that in the ten per cent solution to the extent that in this case, there was obviously considerable alcoholic fermentation going on. The inoculated flasks appeared to contain considerable gas, and the solution appeared to have undergone some gum fermentation also, although this was less marked than in the former case. In the fifty per cent sucrose solutions, the alcoholic fermentation seemed to predominate almost to an entire exclusion of the other. The gas evolution was much greater than in the former series, and the gum development correspondingly less. The development on the plates made from these solutions tended to corroborate the opinion derived from the appearance of the solutions, as to the difference in character of the flora in the different solutions. Thus it was found that on the plates made from the ten per cent solution the development was exclusively composed of the gum forming species previously described¹⁾, while on those made from the twenty-five per cent solution, the growth seemed to be an unequal mixture of yeasts and the species of bacteria which were predominant in the ten per cent solution, with the latter predominating. On the plates made from the fifty per cent sucrose solution, there was also a mixed growth of the yeast and bacteria, but differing in this case from the growth of the previous series in that the predominant growth was composed of yeast colonies. It appears therefore from these results that the superiority of the twenty-five and fifty per cent sucrose solution for the development of

¹⁾ Loc. cit.

the microorganisms in sugars, is to be explained by the fact that they sustain the development of both classes of microorganisms, while upon the ten per cent media one of these groups is entirely excluded.

The development of yeasts in only the higher density solutions, of the series, which resulted from the inoculation with a sugar, tends to explain, perhaps, why these microorganisms have been overlooked as a causative factor in the deterioration of sugars. The culture media which had been exclusively employed for these determinations, are the ordinary ten per cent sucrose agar, or Plain Agar. The fact that in no case during the whole period of the previous investigation in which these media were used was yeast development noted to an extent which would lead to their consideration as a real factor in the flora of sugars, tends to confirm the theory of their sensitiveness, to the influences of changes in density of their surroundings. No investigator in this field of work has seemed to suspect that yeast played an important part in the deterioration of sugars, which was but natural owing no doubt to the consistent absence of yeast colonies upon the plates made from these products, with the ordinary media. In the investigation of the comparative values of various culture media, for the determination of microorganisms in sugars, the character of the colony development was in no case made the object of special study. Even here it was noted in a general way that, whereas the predominant growth upon the ten per cent sucrose agar was composed of viscous colonies, that upon the fifty per cent agar was quite dissimilar, and appeared more like yeast than bacterial colonies. That the sugars used in these experiments were not abnormal in respect to their mixed flora of bacteria and yeast appears evident from a direct microscopical examination of about seventy samples of different qualities of raw sugars, about forty per cent of which were found to contain yeast cells. It appears evident that the yeasts are more sensitive to radical changes in the density of their environment than the bacteria, and for this reason would fail to develop on plates that were made in the usual way, which would lead to the error of assuming that the bacteria predominated in the flora of these products.

From the relative development of these two classes of microorganisms in the twenty-five and fifty per cent sucrose solutions, we might assume that in certain cases one of these media might prove superior, and in other cases it might be outranked by the other medium. For example, in a sugar which contains more yeast than bacteria, the fifty per cent sucrose agar, would undoubtedly give the highest count, but where the bacteria predominated, the twenty-five per cent sucrose agar would be likely to give a more adequate criterion as to the degree of infection of the sugar. A great advantage of this differentiation in requirements of the two groups would be that by using both media on the same sugar comparative values could be obtained which would be indicative of the nature of its infection.

To what then is this difference of development of the two classes of microorganisms upon the plates containing the different media due? It would seem that it might be due to one of several causes or to a combination of these. For example, it might be due to the following: 1. The change in the density of the substratum might affect the yeast more adversely than the bacteria, and assuming that the fifty per cent agar is nearer the same

density of the moisture of film of sugars than the ten per cent agar, we might expect a greater development of yeast to take place in the former. 2. The failure of the yeast to grow in the ten per cent sucrose agar plates, might also be due to the inhibitory action of the bacteria, whose development is

Table XIX.

Development of Microorganisms of Sugar in Solutions of varying Concentrations.
Inoculating Material.
Composite No. 1.

No. of Plate	A. 10 % Sucrose Solution					
	Initial Count Average 3 Flasks			One Week's Incubation Average 3 Flasks		
	Dilution	No. of Colonies	Factor of Error	Dilution (+ 000)	No. of Colonies	Factor of Error
1	—	29	± 7.55	1000	10	± 2.34
2	—	34	± 7.32	1000	9	± 1.73
3	—	27	± 1.517	1000	9	± 2.0
4	—	39	± 1.22	1000	10	± .4
5	—	31	± 2.54	1000	9	± 1.0
6	—	39	± 6.08	1000	9	± 1.14
			± 5.13			± 1.43
	Average No. Colonies 33.			Average No. colonies 9.		
	Average No. Microorg. per cc. 33.			Average No. Microorg. p. cc. 9,000,000.		

No. of Plate	B. 25 %					
	Initial Count Average 3 Flasks			After One Week Average 3 Flasks		
	Dilution	No. of Colonies	Factor of Error	Dilution (+ 000)	No. of Colonies	Factor of Error
1	—	44	± 2.0	1000	11	± 1.51
2	—	43	± 3.0	1000	12	± 1.24
3	—	48	± 3.93	1000	11	± 1.51
4	—	40	± 5.83	1000	12	± 1.14
5	—	42	± 1.14	1000	11	± .54
6	—	38	± 2.45	1000	12	± 1.41
			± 3.06			± 1.22
	Average No. colonies 42.			Average No. colonies 11.		
	Average No. Microorg. per cc. 42.			Average No. Microorg. p. cc. 11,000,000.		

No. of Plate	C. 50 %					
	Initial Count Average 3 Flasks			After One Week Average 3 Flasks		
	Dilution	No. of Colonies	Factor of Error	Dilution (+ 000)	No. of Colonies	Factor of Error
1	—	29	± 1.87	1000	15	± 1.73
2	—	28	± 1.51	1000	13	± .54
3	—	31	± .4	1000	15	± 1.41
4	—	33	± 3.74	1000	22	± 7.48
5	—	37	± 3.46	1000	18	± 4.46
6	—	29	± 1.41	1000	13	± 1.41
			± 2.08			± 2.83
	Average No. colonies 31.			Average No. colonies 16.		
	Average No. Microorg. per cc. 31.			Average No. Microorg. p. cc. 16,000,000.		

peculiarly favored by the density of this medium. It is possible that a combination of both of these causes is responsible for the different types of development on the two media.

It is probable that the yeasts would be more sensitive to sudden changes in osmotic pressure than the species of bacteria found in sugars. These species are very closely related, if in fact not identical with the potato group of bacteria. A. F i s c h e r¹⁾ classifies bacteria according to the permeability of their cell membranes into two groups, viz., 1. Permeable group, not susceptible to plasmolysis. 2. Impermeable group, which are easily plasmolysed. To the first group belongs *Bac. mesentericus*, which is a member of the group of bacteria, to which the species in sugar are closely related. No doubt the species of bacteria in sugars would not be so adversely affected by changes in the density of the solution in which they are grown as other species belonging to the class whose cell membranes are impermeable.

There is much to support the view that the greater sensitiveness of yeasts to changes in osmotic pressure, would account for their failure to develop upon a culture media which seemed entirely favorable for the development of bacterial species in sugars. In a previous investigation the writer²⁾ experienced considerable difficulty in isolating *Saccharomyces zopfii* from cane syrups, and only after a medium was employed, of comparatively the same density as the syrup in which the yeasts were growing, were the efforts successful. All efforts to isolate the yeast upon media which is ordinarily used for the propagation of yeast, were futile, and finally a medium was made with the original syrup as a basis, and with the addition of 2 per cent of agar-agar. It is likely that the species of yeast occurring in sugars, have acquired a similar intolerance for substrata of lower density, as shown in the above case. Whether yeasts are as a rule less resistant than bacteria to such changes, cannot probably be stated as a general maxim.

(Table XIX.)

From the above table it will be noted that the development in Series C, containing the fifty per cent sucrose solution, is again greater than in the other series. In this case, however, the increase in the higher density solutions, is more gradual than in the other experiment. The character of the development in the respective solutions in the above experiment, was similar to that in the former cane. In the series containing the fifty per cent sucrose solution, the development in the plates was chiefly composed of yeast colonies, while in the plates made from Series A, no yeasts were to be observed, but only the gum forming species of bacteria. (Table XX.)

In the above table the results are somewhat different from those obtained in previous experiments. In this case the fifty per cent sucrose solution again gave the highest count, but the superiority of Series A over Series B is difficult to account for. There are several different orders of rank, which we might expect the different series of solutions to take, when used in connection with different types of sugar. For example, with sugars whose flora consists exclusively of bacteria, we might expect the development in A and B to be equal, or indeed Series A might sometimes take first rank. But where the flora of sugars consists of a mixture of yeast and bacteria, the rank of A would be last, and the relative rank of B and C would depend upon which

¹⁾ F i s c h e r's Vorlesungen über Bakterien. Zweite Auflage. p. 25.

²⁾ The Occurrence of *Saccharomyces Zopfii* in Cane Syrup etc. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 39. p. 468.)

Table XX.

Table showing relative Rate of Growth of Microorganisms of Sugar in Solutions of varying Concentrations.
Inoculating Material.
Composite No. 2 (20 Samples).

No. of Plate	A. 10 % Sucrose Solution					
	Initial Count Average of 3 Flasks			One Week's Incubation Average of 3 Flasks		
	Dilution	No. of Colonies	Factor of Error	Dilution (+ 000)	No. of Colonies	Factor of Error
1	—	17	± 1.73	1000	8	$\pm .4$
2	—	17	± 2.44	1000	8	$\pm .57$
3	—	17	$\pm .706$	1000	9	± 1.22
4	—	15	± 2.44	1000	8	$\pm .91$
5	—	15	± 1.41	1000	8	$\pm .89$
6	—	15	± 1.548	1000	7	± 1.22
		$\pm .44$	± 1.54		$\pm .0077$	$\pm .86$
	Average No. Colonies 16.			Average No. Colonies 3.		
	Average No. Microorg. per gram 16. Average No. Microorg. p. cc. 8,000,000.					
B. 25 % Sucrose Solution						
1	—	17	± 1.73	1000	9	$\pm .4$
2	—	16	$\pm .4$	1000	8	$\pm .4$
3	—	15	$\pm .4$	1000	7	$\pm .4$
4	—	13	± 1.41	1000	6	$\pm .4$
5	—	13	± 2.41	1000	6	$\pm .4$
6	—	15	± 2.64	1000	8	± 2.24
		$\pm .63$	± 1.49		$\pm .51$	$\pm .44$
	Average No. Colonies 15.			Average No. Colonies 7.		
	Average No. Microorg. per gram 15. Average No. Microorg. p. cc. 7,000,000.					
C. 50 % Sucrose Solution						
1	—	13	$\pm .89$	1000	11	$\pm .4$
2	—	16	± 2.34	1000	13	± 3.46
3	—	23	± 7.07	1000	12	$\pm .4$
4	—	16	± 2.0	1000	11	$\pm .89$
5	—	13	± 1.0	1000	11	$\pm .707$
6	—	20	$\pm .4$	1000	11	$\pm 1.$
		± 1.61	± 3.62		$\pm .4$	± 1.14
	Average No. Colonies 17.			Average No. Colonies 11.		
	Average No. Microorg. per gram 17. Average No. Microorg. p. cc. 11,000,000.					

type of microorganisms predominated. We cannot well harmonize an order of rank in which Series C is first and A is second, for any condition which would place one of these series first, would necessarily be expected to place the other series at the bottom of the list. The theoretical rank of the series in any case would be determined as follows:

Series A would have first rank when $b = \text{total}$
 Series B " " " " " $b > y$
 Series C " " " " " $y > b$
 $b = \text{bacteria}$
 $y = \text{yeast.}$

Assuming that in Series A only the bacteria develop, and that Series B admits of an equal development of bacteria as takes place in A, with the addition of an unknown percentage of the yeast occurring in sugars, and that Series C admits of the total development of the yeast, and the same per cent of bacterial development as the yeast development of the previous series, the theoretical rank of the series would be as above stated. We need not necessarily know the relative per cent of the total development of yeast and bacteria which takes place in Series B and C respectively. So long as it is constant in the two cases, which we are free to assume from results of the experiments, this theoretical rank should apply. For example, suppose fifty per cent of the yeasts developed in Series B, and the same percentage of the bacteria developed in Series C.

Then if

$$b > y \quad b + \frac{y}{2} \text{ is also greater than } y + \frac{b}{2} \text{ or if}$$

$$y > b \quad y + \frac{b}{2} \text{ " " " " } b + \frac{y}{2}$$

and this would apply no matter how little the difference might be between b and y .

6.

Establishing the empirical Formula for the Culture Medium selected for the quantitative Estimation of the Microorganisms in Sugars.

In comparing the values of various culture media, for the determination of microorganisms in sugars, we accepted without question the formula of Smith's sucrose solution, and employed it as a basis, with modification of its sucrose content alone. We have previously observed that a culture medium should be susceptible of the same exact adjustment, to meet definite purposes, as are standard reagents. There is evidently a condition in the composition of a culture medium which must first be attained before it can be made to yield the maximum development of microorganisms. Deviations from this point, either in one direction or another, might be expected to unfavorably affect the value of the medium for any given purpose. To be sure this optimum condition might tend to exist, in the form of a line, rather than a point, for the reason that there are so many factors of error in connection with the quantitative estimation of bacteria, that comparatively marked deviations from the optimum conditions might easily be obscured by other factors. It is of none the less importance, however, to establish the fundamental value of a culture medium for any specific purpose. To do this it is necessary to test the influence of each ingredient of a medium, to determine whether it can best be substituted by another or whether its presence in just these proportions is essential to maximum results. This process may be compared to establishing an empirical formula, and it was regarded as of sufficient importance to apply it in connection with the present investigation.

Let us consider the formula in question, in order to judge as to the exact purpose each ingredient is intended to meet. We have the following formulat

Sucrose . . .	10 %
Kcl5 %
Na HPO ₄ . .	.2 %
Peptone1 %
Water . . .	100 cc.

In assuming that the formula in question is best for the purposes for which it is recommended, we accept the following equation for the value of the culture medium:

$$(C_{12}H_{22}O_{11}) . 10 \% + (Kcl) . 5 \% + (Na_2HPO_4) . 2 \% + (Peptone) . 1 \% = M. E.$$

This M. E. or maximum efficiency of a culture medium is reached when it admits of the total development of all the microorganisms to be determined in a minimum time, or if stated as a formula.

$$M. E. = \frac{T. d.}{m. t.}$$

M. E. = Maximum efficiency

T. d. = Total development

m. t. = Minimum time.

An examination of the above culture medium formula shows that the various ingredients fall into several distinct divisions, according to the special nature of the nutrition, which they are expected to fill. Beginning with the first one of these ingredients, composing the formula, we have 10 per cent sucrose. This is designed to meet the carbon requirements of the microorganisms, although the peptone which is used as a source of nitrogen, could also supply some carbon. The carbon requirements, however, of microorganisms in general, may be furnished by a number of other carbohydrates. Thus the various sugars, or starch, glycerin, mannit, or cellulose, or in certain cases, organic acids, such as tartaric, malic or citric, may furnish suitable sources of carbon for microorganisms. Therefore we have reason to doubt whether the first of these ingredients in the formula is indispensable.

Next in the formula comes Potassium chloride, which is doubtless intended to supply the source of potassium and chloride in the medium. A certain amount of potassium¹⁾ is known to be essential to the development of microorganisms, and in spite of the difficulty of excluding all traces of this element from a culture medium sufficiently to prove its indispensability in the development of bacteria, when sufficient precautions are taken, it can be shown to be essential. If one uses only special glass which is entirely free of potassium silicate and water which has been repeatedly distilled, the culture medium will admit of only a very poor growth of microorganisms. The potassium requirements of bacteria differ however, some species being less affected by its absence than others²⁾. Thus *Bact. fluorescens* and *pyocyaneum* and *Azotobacter*, seem less dependent upon it than others.

Chlorides are often used in culture medium, but usually in the form of sodium chloride, the addition usually being for the purpose of maintaining the proper physical condition of the solution, rather than for supplying any definite food requirements. In this case, however, the addition of chloride to the culture medium is probably based upon the stimulative action which this compound has been found to exercise upon the gum forming species of bac-

¹⁾ Bennecke, Wilhelm, Bau und Leben der Bakterien. p. 354.

²⁾ Bennecke, Wilhelm, Bau und Leben der Bakterien. p. 354.

teria. Thus A. Maassen¹⁾ found that the addition of sodium or calcium chloride, up to 3 per cent, exercised a marked stimulative action upon the *Leuconostoc mesenteroides*, and this fact is often made use of in isolating this species from others with which it is often associated. Whether the potassium chloride is of greater value in furnishing the chloride for the culture medium formula under consideration, than sodium chloride would be, is a matter to be determined by experiments.

Next in the formula comes phosphorus, which is furnished by sodium phosphate. We know that phosphorus is essential to the normal development of bacterial cells, because these contain organic substances, in which phosphorus is never lacking. In order to prove the importance of phosphorus to the development of microorganisms, one need only attempt to grow them in phosphorus free media. It will invariably be found that no development takes place, but if only a trace of phosphorus be added, development immediately begins. It has also been found that certain pigment forming bacteria lose this property when grown in phosphorus free media. Assuming that this element is indispensable, however, it still becomes necessary to determine in which form it can best be supplied in a medium.

Last in the culture medium formula, comes peptone, which is to supply the nitrogen for the microorganisms. We know that nitrogen is an essential element of nutrition for bacteria and that it can usually be best supplied in the form of peptone. Bacteria, however, may be divided into three classes according to the form in which they take their nitrogen. Thus we have autotrophs, heterotrophs, and prototrophs. The species belonging to the first class take their nitrogen from inorganic compounds like ammonium sulphate, or nitrates. Those of the second class, composing the largest number of species, take their nitrogen from complex organic nitrogen compounds, as albuminoids or peptones, or they may derive it from amido compounds.

The third group comprise the species which assimilate the nitrogen of the air. This group is comparatively small. In the case of the nitrogen prototrophs, however, it should be said that these are facultative rather than obligate, for no obligate species has yet been found. In the case of the other classes also most all of the species can to a limited extent derive their nitrogen in another form.

Table showing Plan of Nutrition Experiment.

Source of Carbon	Source of Nitrogen	Source of Potassium	Source of Phosphorus	Source of Chlorine
Sucrose	Peptone	Potassium Chloride	Potassium Phosphate	Potassium Chloride
Dextrose	Ammonium Sulphate	Potassium Phosphate	Sodium Phosphate	Calcium Chloride
Levulose	Asparagin	—	—	—
Mannite	—	—	—	—

¹⁾ Arb. a. d. Biol. Abt. f. Land- u. Forstwirtsch. am Kais. Ges.-Amte. Bd. 5. 1905. p. 1.

Plan of nutrition experiment.

From the above table the plan of the experiment can be seen. Peptone, ammonium sulphate, and asparagin were used as sources of nitrogen, Potassium and Sodium Phosphate as sources of phosphorus, and Potassium and Sodium Chloride as sources of chloride. Sucrose, dextrose, Levulose and mannite were compared as sources of carbon. The sugars were supplied on the basis of 10 per cent sucrose, the amounts of carbon being the same in each case. The nitrogen was supplied on the basis of .1 and 1 per cent peptone, the same amounts of nitrogen being supplied where ammonium sulphate and asparagin were used as the source of nitrogen. In a similar way .2 and .5 per cent of phosphates were supplied in the form of Sodium and Potassium phosphate, and .5 and 5 per cent chloride were supplied in the form of Potassium and Calcium Chloride. Where the two forms of phosphate were compared, the sodium phosphate was used in conjunction with potassium chloride and the potassium phosphate with sodium chloride, in order to avoid adding sodium or potassium twice in the same solution.

In comparing the value of the chlorides, the phosphates were kept out of the formula, owing to the action of the calcium chloride upon the phosphate, which resulted in a precipitation of calcium phosphate. The results therefore from that part of the experiment is really a test of the need of phosphates in the medium, as well as a test of the best source of chloride. The preparation of the medium was carried out with the great est care. Distilled water was used in making up the solution. The dilution of the samples and the method of inoculating the plates were the same as was previously described. Three composite samples of sugar were used as inoculating material.

Table XXI.

Table showing Development of Microorganisms in Sugars, in Media with different Sugars. Dilution 1 : 500.

Plate	Sucrose 10 %			Dextrose 10.52 %			Levulose 10.52 %		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
1	25	15	15	10	9	8	7	5	5
2	20	12	12	10	10	10	6	5	6
3	22	11	13	11	9	10	6	4	6
4	30	14	15	10	9	9	6	5	6
5	25	15	15	11	9	10	6	5	6
6	20	12	14	15	7	9	5	—	5
	24	13	14	11	9	9	6	5	6
Average	16			10			6		
	± 7.58	± .707	± 1.61	± 6.32	± .4	± .316	± .245	± .227	± .245

Plate	Dextrose and Levulose 10.52 %			Mannite 10.67 %		
	I	II	III	I	II	III
1	8	5	5	9	6	5
2	8	5	5	7	5	3
3	7	8	5	12	5	4
4	7	5	5	8	5	5
5	9	6	4	8	5	7
6	9	5	5	—	7	5
	8	6	5	9	5	5
Average	6			7		
	± .114	± .161	± .000	± .866	± .4	± .547

From the above table it can be seen that sucrose gave higher yields than any of the other sources of carbon. Dextrose took second rank, with mannite third. The mixture of dextrose and levulose seems to have exerted a depressing action, as it gave lower results than the dextrose alone. From this experiment it appears that sucrose is superior to the other sugars as a source of carbon. As regards the most favorable concentration of sucrose, we have already disposed of this question in our previous experiments.

Table XXII.

Table showing relative Development of Microorganisms of Sugare upon Media containing different Nitrogenous Compounds.

Dilution 1 : 500.

Composite Sample I.

Plate	Peptone		Asparagin		Ammonium Sulphate	
	0.14 N	1 % N	0.14 N	1 % N	0.14 N	1 % N
1	20	15	20	20	5	15
2	19	12	20	10	5	10
3	35	11	18	20	6	10
4	21	10	13	20	5	10
5	20	20	12	15	5	10
6	20	12	20	20	6	—
Average	22	13	17	17	5	11
Factor of error	± 1	± 1.48	± 1.51	± 1.73	± .245	± .775

Composit Sample No. II.

Plate	Peptone		Asparagin		(NH ₄) ₂ SO ₄	
	0.14 N	1 % N	0.14 N	1 % N	0.14 N	1 % N
1	32	25	15	20	10	12
2	33	28	16	20	10	15
3	29	20	18	20	10	19
4	28	20	18	18	10	12
5	21	28	20	20	14	16
6	20	20	19	23	12	20
Average	27	23	18	20	11	16
Factor of error	± 2.23	± 1.64	± .775	± .632	± .678	± 1.415

Composite Sample III.

Plate	Peptone		Asparagin		(NH ₄) ₂ SO ₄	
	0.14 N	1 % N	0.14 N	1 % N	0.14 N	1 % N
1	25	20	15	20	10	12
2	23	18	17	18	12	13
3	24	18	16	22	10	13
4	26	17	18	20	11	13
5	26	16	17	18	10	13
6	30	—	16	22	14	—
Average	26	18	16	20	11	13
Factor of error	± 1	± 1.475	± .48	± .707	± .656	± .245

In the above table the results of the comparison of different sources of nitrogen are given. It will be noted that peptone gave the highest result, followed by asparagin. An interesting point in connection with the above results, is the apparent depressing influence of comparatively small quanti-

ties of peptone. One-tenth per cent part of this substance seems to be more favorable than the addition of one per cent part. The reverse is true of both of the other nitrogenous compounds, which increase in efficiency with the higher amount. Larger quantities of nitrogen seem to be demanded when in the form of ammonium sulphate, than in the form of asparagin or peptone. This would indicate that the predominant species in sugars are heterotrophs, and facultatively autotrophic. Noel Deerr and Norris¹⁾ found that the bacteria in sugars were retarded in their development by the presence of more than very small amounts of peptone, and the writer²⁾ found that the gum development of these species seem to have been interfered with when there was more than .5 per cent peptone in the solution. It appears from the above experiment that the nitrogen requirements of the microorganisms in sugars are best supplied by the amounts and forms prescribed in Smith's formula.

Table XXIII.

Table showing relative Development of Microorganisms of Sugar upon Media containing various Phosphates.

Composite I

Plate	Sodium Phosphate		Potassium Phosphate	
	0.2 %	0.5 %	0.2 %	0.5 %
1	20	19	30	27
2	20	19	28	28
3	20	17	29	29
4	22	20	27	29
5	19	21	30	29
6	20	19	35	28
Average	20	19	30	28
Factor of Error	± .4	± .5475	± 1.81	± .316

Composite II

1	26	25	29	28
2	26	26	28	30
3	28	26	30	27
4	27	26	30	28
5	25	25	30	28
6	26	26	30	27
Average	26	26	29	28
Factor of Error	± .447	± .245	± .4	± .447

Composite III

1	25	23	28	27
2	26	20	27	26
3	25	25	29	26
4	26	23	28	26
5	26	22	27	27
6	26	22	—	27
Average	26	22	28	26
Factor of Error	± .245	± .707	± .5475	± .316

In comparing the values of the two sources of phosphate, the formula had to be changed so as to obviate the addition of potassium, in two places

¹⁾ Loc. cit.

²⁾ Loc. cit.

in the formula. To do this sodium phosphate was used with potassium chloride, and where potassium phosphate was used, sodium chloride was substituted for potassium chloride. The results of this experiment show that increases in phosphates above the amount prescribed in the formula are of no value, and in fact seem to exercise inhibiting influence, particularly with potassium phosphate. Potassium phosphate seems to be preferable to sodium phosphate, but the advantage is so slight as to scarcely warrant a change in the formula. We may conclude that the amount of phosphates prescribed by the formula is essentially correct, but that potassium phosphate and NaCl might be equally well substituted in the formula.

Table XXIV.

Table showing relative Development of Microorganisms of Sugar upon Media containing various Chlorides.

Composite No. I					Composite No. II			
Plate	KCl		CaCl ₂		KCl		CaCl ₂	
	0.5 %	5 %	0.5 %	5 %	0.5 %	5 %	0.5 %	5 %
1	16	17	10	11	20	20	16	15
2	15	16	11	9	20	19	18	15
3	17	16	10	10	10	19	16	13
4	18	—	11	10	17	19	17	14
5	17	16	11	10	20	20	17	13
6	15	16	13	9	—	—	—	—
Average	16	16	11	10	19	19	17	14
Factor of Error	± .509	± .223	± .447	± .316	± .632	± .316	± .387	± .447

Composite No. III

Plate	KCl		CaCl ₂	
	0.5 %	5 %	0.5 %	5 %
1	17	18	14	13
2	19	17	13	12
3	19	18	12	12
4	18	18	13	12
5	20	18	13	11
6	17	18	13	12
Average	18	18	13	12
Factor of Error	± .509	± .173	± .245	± .245

The above table gives the results of an experiment in which the values of two sources of chloride and also two quantities of this substance are compared. It will be seen that potassium chloride is superior to calcium chloride, and that here again increases in amounts over that given in the formula is of no advantage. In this experiment, phosphates have been eliminated entirely, so the experiment is really a test not only of the relative value of two sources of chloride, but also of the influence of phosphates. Comparing the results of this experiment with the preceding ones in which phosphates were used in the formula a material decrease in development is to be observed, due no doubt to the lack of this element of nutrition. It can be assumed from the above results that the form and amount of chlorides prescribed in the formula are most favorable for the development of microorganisms in sugars.

In testing the value of the formula for the culture media employed for the estimation of the microorganisms in sugars, it should be remembered that this is not a test of the formula that was found to be most favorable for this purpose. We were testing a medium containing only 10 per cent sugar, whereas the maximum results were obtained in media containing fifty per cent sucrose. Our attention was confined to deducing the value of the formula prescribed by Smith, which formed the basis of the medium which we found to yield maximum results. It seems fair to assume that if the basis of the medium was proven to be most favorable for the development of a part of the flora of sugars, and that if a modification in its per cent of sucrose was originally found to increase its value for the other class of microorganisms constituting the flora to be determined, that any modification that would increase the value of the formula in the first instance, would also apply in the second. As our test of the formula, however, showed no necessity for introducing any material change when used in connection with ten per cent sucrose or its equivalent, it seems unnecessary to speculate as to whether any modification of it would have improved its value when used with the amount of sucrose that our results have led us to prescribe.

Summary of Conclusions.

1. The relative rank of the different culture media employed in the investigation for use in connection with various sugar house products, is given in the following table:

Raw Juice	Clarified Juice	Massecurite	Raw Sugar
Plain Agar	Sucrose Agar	Plain Agar	Sucrose Agar 50 %
Sucrose Agar	Plain Agar	Raw Juice Agar	Sucrose Agar 25 %
Raw Juice Peptone Agar	Raw Juice Peptone Agar	Raw Juice Peptone Agar	Plain Agar
Raw Sugar Peptone Agar	Molasses Peptone Agar	Molasses Peptone Agar	Sucrose Agar 10 %
Molasses Peptone Agar	Raw Juice Agar	Molasses Agar	—
Molasses Agar	Raw Juice Peptone Agar	Sucrose Agar	—
Raw Juice Agar	Molasses Agar	Raw Juice Peptone Agar	—
Raw Sugar Agar	Raw Sugar Agar	Raw Sugar Agar	—

2. The superior value of the higher density media, for the estimation of microorganisms in sugars, is believed to be due to the injurious influences exercised upon one class of these microorganisms, by the change from the density of the film of moisture around the sugar crystals to the low density media.

3. The methylene blue reduction method is inapplicable to the quantitative estimation of microorganisms in sugars.

4. The most favorable reaction for the culture medium is neutrality with phenolphthalein as an indicator.

5. The growth of the microorganisms of sugars upon high density media, is slower than upon those of low density.

6. The basis of Smith's formula for the sucrose agar, which has been used for the determination of microorganisms in sugars, has been proven to be essentially correct.

Neue Literatur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. OTTO HAMANN,

Oberbibliothekar der Kgl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines, Lehrbücher usw.

Auszug aus dem Jahresbericht des Weinbaufachverständigen, Weinbauinspektors Mährlen in Weinsberg, über seine Tätigkeit im Jahre 1913. (Der Weinbau. Jahrg. 1914. No. 4. p. 55—58.)

Dafert, F. W. und Kornauth, Karl, Bericht über die Tätigkeit der K. K. landw.-chemischen Versuchsstation und der mit ihr vereinigten K. K. landw.-bakteriologischen und Pflanzenschutzstation in Wien im Jahre 1913. Wien (Frick) 1914. 102 p. 8°. (Aus: Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Österreich 1914, p. 325—422.)

Detmann, H. Mitteilungen der Kais. biol. Anstalt f. Land- u. Forstwirtschaft über Versuchsergebnisse im Jahre 1912. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. 24. 1914. H. 4. p. 207—211.)

Jablonowsky, J. Neuere Arbeiten der k. ungarischen Station für Entomologie. (Internat. agrartechn. Rundsch. Jahrg. 5. 1914. H. 3. p. 335—339.)

Imms, A. D., The scope and aims of applied entomology (Parasitology. Vol. 7. 1914. No. 1. p. 69—87.)

Kiškalt, Karl und Hartmann, Praktikum der Bakteriologie und Protozoologie. 1. Teil. Bakteriologie. 3. Aufl. Jena (Fischer) 1914. VIII, 112 p. 8°. 40 Fig. 3 M.

Knischewsky, Mitteilungen aus Holländisch-Indien. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. 24. 1914. H. 4. p. 220—228.)

Rossi, Giacomo, Le applicazioni pratiche della microbiologie agraria ed industriale. Conferenza tenuta in Roma al Congr. dell' Assoc. Ital. d. cathedre ambul. di agric. Roma, tip. Pallotha 1913. 22 p. 8°.

—, R. Scuola superiore di agricoltura in Portici. Inaugurazione del Busto ad Orazio Comes. — Degli scritti e delle opere di Orazio Comes. Portici, della Torre 1914. 8°. 62 Fig. (Sep. aus: Ann. R. Scuola Sup. d'Agric. di Portici. Vol. 12. p. 67—120.)

Trinchieri, Giulio, La Conferenza internazionale di Fitopatologia e le sue decisioni. (Riv. tecnica e colon. di sc. applicate Boll. di Merceologia. Napoli. Vol. 4. 1914. No. 5/6. Sep. Salerno, Spadafora 1194. 11 p. 8°.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente usw.

Giemsa, G., Zur Schnellfärbung (Romanowsky-Färbung) von Trockenausstrichen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 73. 1914. H. 7. p. 493—496, Fig.)

Goodrich, G. W., Comparison the plating and microscopic methods in the bacteriological examination of milk. (Journ. of infect. dis. Vol. 14. 1914. No. 3. p. 512—519.)

v. Heydenreich, L., Ein Thermoregulator mit Wasser für Thermostaten. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 73. 1914. H. 6. p. 444—448. 1 Fig.)

- Huntoon, F. M.**, A simple and reliable method of staining spores. (Journ. American med. Assoc. Vol. 62. 1914. No. 18. p. 1397.)
- Köck, Gustav**, Über Lehrbeihilfe im Pflanzenschutzunterrichte. (Land- u. forstw. Unterrichtszeit. d. K. K. Ackerbauminister. Jg. 27. 1913. H. 3/4. 7 p. 4 Fig.)
- Müller, Arno**, Ein neues Verfahren zum Nachweis spezifischer Bakterien in größeren Wassermengen. (Arb. a. d. K. Gesundheitsamte. Bd. 47. 1914. H. 3. p. 512—526. 1 Taf.)
- Müller, Paul Th.**, Über meine Schnellmethode der bakteriologischen Wasseruntersuchung. (Arch. f. Hyg. Bd. 82. 1914. H. 2. p. 57—75.)
- Newman, E. A. R.**, A portable high pressure sterilizer. (Indian Med. Gaz. Vol. 49. 1914. No. 2. p. 57—59. 3 Fig.)
- Seliber, G.**, La culture des microbes dans les solutions de caséine. (Compt. rend. Soc. Biol. T. 76. 1914. No. 14. p. 639—641.)
- Trillat, A. et Fouassier, M.**, Entrainement et séparation de microbes en suspension dans l'eau sous l'influence d'un courant d'air. (Compt. rend. Acad. Sc. T. 158. 1914. No. 7. p. 518—521.)
- Willführ, G.**, Über den Bakteriennachweis im Wasser mit dem Berkefeld filter nach Hesse. (Mitteil. a. d. K. Landesanst. f. Wasserhyg. Berlin-Dahlem. H. 18. 1914. p. 33—47. 2 Fig.)

Systematik, Morphologie.

- Bargagli-Petrucchi**, Studi sulla flora microscopica della regione boracifera Toscana. 3. Tl. *Bacillus ferrigenus* n. sp. (Nuova Giorn. bot. Ital. Vol. 20. 1913. No. 4. p. 497—530.)
- Beauverie, J.**, Sur le chondriome d'une Urédinée: *Le Puccinia malvacearum* (Compt. rend. Soc. Biol. T. 76. 1914. No. 8. p. 359—361.)
- Bianchi, Giovanni**, Micologia della Provincia di Mantova. Secondo contributo. (Atti Ist. bot. Univ. Pavia. Ser. 2. Vol. 13. 1914. p. 309—342.)
- Bubák, Fr.**, Ein Beitrag zur Pilzflora von Tirol und Istrien. (Ann. Mycol. Vol. 12. 1914. No. 2. p. 205—220. 1 Taf.)
- von Büren, Günther**, Zur Cytologie von Protomyces. (Mycol. Centralbl. Bd. 4. 1914. H. 4. p. 197—198.)
- Cépède, Casimir**, Étude des Laboulbéniaées européennes *Laboulbenia Blanchardi* n. sp. et son parasite *Fusarium Laboulbeniae* n. sp. (Arch. de parasitol. T. 16. 1914. No. 3. p. 373—403. 1 Taf.)
- Higgins, Bascombe Britt**, Life history of a new species of *Sphaerella*. (Mycol. Centralbl. Bd. 4. 1914. H. 4. p. 187—193. 2 Fig.)
- v. Höhnelt, F.**, Beiträge zur Mykologie. 8. (Ztschr. f. Gärungsphysiol. Bd. 4. 1914. H. 3. p. 207—223.)
- v. Keißler, Karl**, Beitrag zur Kenntnis der Pilzflora von Oberösterreich. (Beih. z. bot. Centralbl. Bd. 31. 1914. Abt. II. H. 3. p. 429—462.)
- Léger, L. et Duboscq, O.**, Sur une nouvelle Schizogregarine à stades épidermiques et à spores monozoïques. (Compt. rend. Soc. Biol. T. 76. 1914. No. 7. p. 296—297.)
- Luska, Fr.**, Morphologisch-biologische Untersuchungen über die färbbaren Körnchen im Inhalte des *Micrococcus ochraceus*. Ein experimenteller Beitrag zur Kernfrage bei den Bakterien. (Arch. f. Protistenk. Bd. 33. 1914. H. 3. p. 272—312.)
- Maffei, Luigi**, Contribuzione allo studio della micologia ligustica. (Atti Istit. bot. Univ. Pavia. Ser. 2. T. 13. 1914. p. 273—289.)
- Mameli, Eva**, Sulla flora micologica della Sardegna. (Atti Istit. bot. Univ. Pavia. Ser. 2. Vol. 13. 1914. p. 153—175.)
- Rehm**, Ascomycetes exs. Fasc. 54. (Ann. Mycol. Vol. 12. 1914. No. 2. p. 165—175.)
- Rota-Rossi, Guido**, Terza contribuzione alla micologia della Provincia di Bergamo. (Atti Istit. bot. Univ. Pavia. Ser. 2. Vol. 13. 1914. p. 195—212.)
- Saccardo, P. A.**, Sylloge fungorum omnium hucusque cognitorum. Neue Aufl. Patavii. Berlin (Friedländer & Sohn). Vol. 21. Suppl. universal. Pars 8: Hymenomycetae-Phycomycetae, auctoribus P. A. Saccardo et Alex. Trotter. (Anastat. Neudruck.) XV, 928 p. 54 K.
- de Sandro, Domenico**, Sul bacillus oxalatigenes n. sp. Portici, della Torre 1913. 11 p. 8^o. (Ann. R. Scuola Sup. d'Agric. di Portici. Vol. 11.)
- Sydow, H. et P.**, Beitrag zur Kenntnis der parasitischen Pilze der Insel Formosa. (Ann. Mycol. Vol. 12. 1914. No. 2. p. 105—112.)
- , Bemerkungen zur Charakteristik der Klehbanischen Bearbeitung der Uredineen in der Kryptogamen-Flora der Mark Brandenburg. (Ann. Mycol. Vol. 12. 1914. No. 2. p. 113—127.)
- , Zweiter Beitrag zur Kenntnis der parasitischen Pilzflora des nördlichen Japans. (Ann. Mycol. Vol. 12. 1914. No. 2. p. 158—165. 4 Fig.)

- Sydow, H. et P.**, Novae fungorum species. 12. (Ann. Mycol. Vol. 12. 1914. No. 2. p. 195—204.)
- Theissen, F. und Sydow, H.**, Dothideazeen-Studien. (Ann. Mycol. Vol. 12. 1914. No. 2. p. 176—194.)
- Usami, K.**, Mykologische Notizen über Awamori-Koji-Pilze (*Aspergillus*) und *Rhizopus* Delemar. (Mykol. Centralbl. Bd. 4. 1914. H. 4. p. 193—197. 8 Fig.)
- Weese, Josef**, Beitrag zur Kenntnis der Gattung *Nectriella* Nitschke. (Ann. Mycol. Vol. 12. 1914. No. 2. p. 128—157. 2 Fig.)
- , Beitrag zur Kenntnis der Gattung *Calonectria*. (Mykol. Centralbl. Bd. 4. 1914. H. 3. p. 121—132. 2 Fig.; H. 4. p. 177—187.)
- van der Wolk, P. C.**, *Rhizostilbella rubra* (n. g. n. sp.) a by-fruit form of *Ascobolus parasiticus* (n. sp.); and its connection with the Sclerotium disease of certain tropical cultivated plants [*Sclerotium omnivorum* n. sp.] (Mykol. Centralbl. Bd. 4. 1914. H. 5. p. 236—241. 1 Taf.)
- Woronichin, N. N.**, *Plectodiscella piri*, der Vertreter einer neuen Ascomyceten-Gruppe. (Mykol. Centralbl. Bd. 4. 1914. H. 5. p. 225—233. 1 Taf. u. 7 Fig.)

Biologie.

- Ackermann, D.**, Über das Verhalten der Betaine bei der Fäulnis. (Zeitschr. f. Biol. 1914. Bd. 64. H. 1. p. 44—50.)
- Atkinson, Geo. F.**, The development of *Armillaria mellea*. (Mykol. Centralbl. Bd. 4. 1914. H. 3. p. 113—121, 2 Taf.)
- Aubel, E. et Colin, H.**, Influence des sucres sur la transformation bactérienne des substances organiques azotées en sels ammoniaux. (Compt. rend. Soc. Biol. T. 76. 1914. No. 18. p. 835—837.)
- Balser, Eduard**, Der Einfluß des Alkohols auf Bakterien. [Diss. med.] Gießen 1914. 8°.
- Bassalik, Kasimir**, Über die Verarbeitung der Oxalsäure durch *Bacillus extorquens* n. sp. (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 53. 1914. H. 3. p. 255—304, 3 Fig.)
- Beauverie, J.**, Sur l'efficacité des germes de rouilles contenus dans les semences des Graminées pour la propagation de la maladie. (Compt. rend. Acad. sc. T. 158. 1914. No. 17. p. 1196—1198.)
- Bertrand, Gabriel**, L'argent peut-il, à une concentration convenable, exciter la croissance de l'*Aspergillus niger*? (Compt. rend. Acad. Sc. T. 158. 1914. No. 17. p. 1213—1216.)
- Biers, P. M.**, Notes générales sur les champignons. (Rev. de viticult. Année 21. 1914. No. 1060. p. 393—398, mit Fig.)
- Bubák, Fr.**, Eine neue *Rhizosphaera*. (Ber. d. Deutschen bot. Ges. Bd. 32. 1914. H. 3. p. 188—191.)
- Christeller, Erwin**, Zur Variabilität des *Bacillus bulgaricus*. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. 77. 1914. H. 1. p. 45—48.)
- Eriksson, Jacob**, Sur l'apparition de sores et de mycélium de Rouille dans les grains des céréales. (Compt. rend. Acad. sc. T. 158. 1914. No. 17. p. 1194—1196.)
- Euler, Hans**, Über die Rolle des Glykogens bei der Gärung durch lebende Hefe. 2. Mitt. (Hoppe-Seyler's Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 90. 1914. H. 4. p. 355—366.)
- Franzen, Hartwig**, Beiträge zur Biochemie der Mikroorganismen. (Hoppe-Seyler's Zeitschr. f. physiol. Chem. 1914. Bd. 90. H. 4. p. 311—354.)
- Franzschel, W.**, Kulturversuche mit Uredineen in den Jahren 1911—1913. (Mykol. Centralbl. Bd. 4. 1914. H. 2. p. 70—71.)
- Geisenheyner, L.**, Noch einige neue oder seltenere Zooecidien, besonders aus der Mittelrheingegend. Wiesbaden, Bergmann, 1913. (Jahrb. d. Nass. Ver. f. Naturk. in Wien. p. 147—168, 3 Fig.) —, 60 M.
- Harden, Arthur**, La fermentation alcoolique. Paris, Hermann et fils 1913. 163 p. 8°. 5 M.
- Javillier, M.**, Utilité du zinc pour la croissance de l'*Aspergillus niger* (*Sterigmatocystis nigra* V. Tgh.) cultivé en milieux profonds. (Compt. rend. Acad. Sc. T. 158. 1914. No. 17. p. 1216—1219.)
- Jollos, Victor**, Variabilität und Vererbung bei Mikroorganismen. (Ztschr. f. indukt. Abstammungs- u. Vererbungslehre. 1914. Bd. 12. H. 1. p. 14—34.)
- Iwanoff, Leonid**, Zur Frage nach der Beteiligung der Zwischenprodukte der alkoholischen Gärung an der Sauerstoffatmung. (Ber. d. Deutschen bot. Ges. Bd. 32. 1914. H. 3. p. 191—196.)
- Kirchmayr, H.**, Über den Parasitismus von *Polyporus frondosus* Fr. und *Sparassis ramosa* Schöff. (Hedwigia. Bd. 54. 1914. H. 6. p. 328—337, 2 Fig.)
- Köck, Gustav**, Die Verwendung von Knöllchenbakterien zu Leguminosen. (Mitt. d. K. K. Pflanzenschutzstat. Wien. Wien (Fromme) 1914. 4 p. 1 Fig.)

- Kylin, Harald**, Über Enzymbildung und Enzymregulation bei einigen Schimmelpilzen. (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 53. 1914. H. 4. p. 465—501.)
- Kornauth, K. und Zanluchi, Fr.**, Untersuchungen über den Anbau und die Säuerung der Gurken. 1. (Zeitschr. f. d. landw. Versuchswesen in Österreich 1913. p. 1025—1043.)
- Lasseur, Ph.**, Sur l'extraction des pigments bactériens. (Compt. rend. soc. biol. T. 76. 1914. No. 17. p. 819—820.)
- v. Lebedew, A.**, Hefemazerationssaft oder Hefeextrakt? (Ztschr. f. Gärungsphysiol. Bd. 8. 1914. H. 3. p. 236—237.)
- Malaquin, A. et Moitié, A.**, Observations et recherches expérimentales sur le cycle évolutif du puceron de la betterave [*Aphis evonymi* Fb.] (Compt. rend. Acad. sc. T. 158. 1914. No. 19. p. 1371—1374.)
- Mayer, Sally**, Weitere Beiträge zum Studium über Heugärung. [Diss. med.] Würzburg 1914. 8°.
- Meyer, Rud.**, Zur Farbstoffbildung und Konidienkeimung bei *Penicillium variabile* Wehm. (Mykol. Centralbl. Bd. 4. 1914. H. 2. p. 72—76, 2 Fig.)
- Miehe, Hugo**, Weitere Untersuchungen über die Bakteriensymbiose bei *Ardisia crispa*. (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 53. 1914. p. 1—53, 2 Taf.)
- Mohr**, Die Enzymtheorie der Gärung. (Wehschr. f. Brauerei. Jahrg. 31. 1914. No. 19. p. 177—179.)
- Oestling, G. J.**, Über die Inversion von Rohrzucker durch *Aspergillus niger*. (Mykol. Centralbl. Bd. 4. 1914. H. 5. p. 233—236.)
- Ravin, Paul**, Nutrition carbonée des plants à l'aide des acides organiques libres et combinés. (Ann. des sciences nat. Sér. 9. Bot. T. 18. 1913. No. 5/6. p. 289—446.)
- Sartory, A.**, Étude d'une nouvelle espèce de *Citromyces*, *Citromyces Bruntzii* n. sp. (Compt. rend. soc. biol. T. 76. 1914. No. 13. p. 605—606.)
- Sasaki, Takaoki**, Über die biochemische Umwandlung primärer Eiweißspaltprodukte durch Bakterien. Mitt. 1. Das Verhalten von Tyrosin gegen *Bact. coli commune*. — Eine einfache biochemische Darstellungsmethode von p-Oxyphenyläthylamin. (Biochem. Ztschr. Bd. 59. 1914. H. 5/6. p. 429—435.)
- Schumann, Werner**, Versuche zum Nachweis der Bildung flüchtiger, riechender Stoffe durch Schimmelpilze aus Verbindungen der Sauerstoff- und Stickstoffgruppe. Diss. Rostock 1914. 8°.
- Simon, J.**, Bedeutung der Bodenbakterien für die Ernährung unserer Kulturpflanzen. (Sächsische landw. Presse. 1914. No. 13. p. 205; No. 14. p. 224; No. 15. p. 239; No. 16. p. 263.)
- Spieckermann, A.**, Die Zersetzung der Fette durch höhere Pilze. II. Der Abbau der Fettsäuren. (Ztschr. f. d. Unters. d. Nahr.- u. Genußmittel Bd. 27. 1914. H. 1/3. p. 83—113.)
- Tamura, Sakae**, Zur Chemie der Bakterien. 4. Mitt. Zur Kenntnis der in den Bakterien enthaltenen Kohlenhydrate. (Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 89. 1914. H. 4. p. 304—311.)
- Thurn, Otto**, Über die Lebensfähigkeit an Objektträgern angetrockneter ungefärbter und gefärbter Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 74. 1914. H. 1/2. p. 81—90.)
- Tilmant, A.**, Le mimétisme bacillaire. (Compt. rend. soc. biol. T. 76. 1914. No. 14. p. 634—635.)
- Toenniessen, Erich**, Über Vererbung und Variabilität bei Bakterien mit besonderer Berücksichtigung der Virulenz. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig., Bd. 73. 1914. H. 4/5. p. 241—277, 2 Taf.)
- Ventre, Jules**, Influence des différentes espèces de *Saccharomyces* sur milieux artificiels et naturels. 2e partie. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 28. 1914. No. 3. p. 257—279. 4 Fig.)
- Wehmer, C.**, Der Gang der Acidität in Kulturen von *Aspergillus niger* bei wechselnder Stickstoffquelle. (Biochem. Ztschr. Bd. 59. 1914. H. 1/2. p. 63—76.)
- , Zur Resistenz des Eichenholzes gegen Hausschwammwirkung infolge des Gerbstoffgehaltes. (Ber. d. Deutschen bot. Ges. Bd. 32. 1914. H. 3. p. 206—217.)
- Wehmer, C.**, Weitere Keimversuche mit *Merulius*-Sporen. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. Bd. 32. 1914. H. 4. p. 254—256. 1 Taf.)
- , Versuche über die Bedingungen der Holz-Ansteckung und -Zersetzung durch *Merulius* [Hausschwammstudien 5]. (Mykol. Centralbl. Bd. 4. 1914. H. 5. p. 241—252. 2 Taf. u. 1 Fig.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft, Wasser, Boden.

- Calmette, A. et Rolants, E.**, Recherches sur l'épuration biologique et chimique des eaux d'égout. 9. édition. Paris (Masson et Cie.) 1914. 252 p. 8°. 6 Taf. u. 30 Fig.
- Cavel, L.**, Sur l'entraînement de germes microbes dans l'atmosphère par pulvérisation d'eau polluée. (Compt. rend. Acad. Sc. T. 158. 1914. No. 12. p. 896—898.)
- Fischer, Herm.**, Über die Gefahren der bakteriellen Salpeterzerstörung auf dem Felde. (Fühlings landw. Ztg. 1914. H. 7. p. 244—252.)
- Miller, F.**, Über den Einfluß des Kalkes auf Bodenbakterien. (Ztschr. f. Gärungsphysiol. Bd. 18. 1914. H. 3. p. 194—206.)
- Silbermann, A.**, Über die Sterilisation von Wasser durch ultraviolette Strahlen. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. 77. 1914. H. 2. p. 189—216.)

Nahrungsmittel im allgemeinen.

- Serger, H.**, Die chemischen Konservierungsmittel. (Chemiker-Ztg. 1914. No. 33. p. 354—356; No. 34. p. 370—372.)

Fleisch.

- Wall, S.**, Ein Jahresergebnis bakteriologischer Fleischschau. (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 1914. Jg. 24. H. 14. p. 319—321.)

Milch, Molkerei.

- A.**, Neuere Milchprüfungsarten. (Mitt. d. Milchw. Ver. im Allgäu. 1914. No. 2. p. 26—29; No. 3. p. 60—62.)
- Ayers, S. Henry and Johnson, William T.**, Pasteurization in bottles and the process of bottling hot pasteurized milk. (Journ. of infect. dis. Vol. 14. 1914. No. 2. p. 217—241.)
- Bahr, L.**, Einige Milchuntersuchungen mit besonderer Berücksichtigung des Wertes der Rosolsäurealkoholprobe. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 1914. Jahrg. 24. H. 10. p. 228—233; H. 11. p. 251—256.)
- Behre, A.**, Ergebnisse der Kontrolle von Milch, Käse und Butter in Chemnitz im Jahre 1913. (Milchwirtschaftl. Centralbl. 1914. H. 10. p. 257—264.)
- Bertin-Sans, H. et Gaujoux, Em.**, Les réductases du lait de vache. Leur Signification au point de vue de la valeur hygiénique du lait. (Rev. d'hyg. et de police sanit. T. 36. 1914. No. 3. p. 258—271.)
- Boy, M.**, Die Notwendigkeit der künstlichen Kälte für den Molkereibetrieb. (Molkerei-Ztg. Hildesheim. 1914. No. 15. p. 267—268.)
- Brudny, Viktor**, Die Untersuchung des Sediments der Leukocytenprobe nebst Beschreibung neuer Leukocytenröhrchen. (Milchw. Centralbl. 1914. H. 7. p. 179—182.)
- Buckley, Wilfred**, The certification of milk, and its effect on the general milk supply. (Journ. R. sanitary Instit. Vol. 35. 1914. No. 5. p. 197—203.)
- Burr, A. u. Weise, H.**, Untersuchung homogenisierter Milchflüssigkeiten. (Molkerei-Ztg. Hildesheim. 1914. No. 20. p. 367; No. 21. p. 381.)
- , Über den Gehalt frischen Butterfettes an freien Fettsäuren und flüchtigen Fettsäuren. (Molkerei-Ztg. Hildesheim. 1914. No. 16. p. 291—292.)
- Devarda, A.**, Molkerei. (Ber. üb. d. Tätigk. d. K. K. landw.-chem. Versuchsst. in Wien i. J. 1913. Wien (Frick) 1914. p. 27—37; Zeitschr. f. d. landw. Versuchswesen in Österreich.)
- , Welchen Wert hat die Alizarolprobe für die Untersuchung der Milch zum Zwecke der Marktkontrolle? (Österr. Molkerei-Ztg. 1914. No. 2. p. 17—19.)
- Drews, Richard**, Ein Musterbetrieb für Kuhmilchgewinnung. (Deutsche Vierteljahrschr. f. öffentl. Gesundheitspfl. Bd. 46. 1914. H. 2. p. 261—269.)
- Eichloff**, Merkblatt zur Herstellung guter Butter. (Mitt. d. Deutschen Milchw. Ver. 1914. No. 3. p. 57—59.)
- Eichloff**, Auf welchem Wege kann die Beschaffenheit der deutschen Butter in steigendem Maße verbessert werden? (Mitteil. d. Deutsch. Milchwirtsch. Vereins 1914. No. 3. p. 66—76; No. 4. p. 85—92.)
- Freund, W.**, Ein neues Reinigungsmittel für Milchflaschen und Molkereigeräte. (Molkerei-Ztg. Hildesheim. 1914. No. 14. p. 253—254.)
- Glage**, Zur Untersuchung der Milch durch praktische Tierärzte; Prüfung des Eiweiß- und Zuckergehaltes zur Erkennung abnormer Einzelgemelke [Schluß]. (Berliner Tierärztl. Wochenschr. 1914. No. 14. p. 234—236.)

- Grundsätze für die Entnahme von Milchproben und für die Durchführung von Stallproben. (Molkerei-Ztg. Berlin. Jg. 24. 1914. No. 22. p. 251—252.)
- Hittcher**, Untersuchung der Milch der Kuhherde der Kgl. Domäne Kleinhof-Tapiau in den Jahren 1910/11 und 1911/12. (Wiss. Rundschau [Beil. z. Georgine, land- u. forstw. Ztg.]. 1914. No. 3. p. 11—12; No. 4. p. 13—16.)
- Klunker**, Über biorisierte Milch. (Molkerei-Ztg. Hildesheim. Jg. 28. 1914. No. 33. p. 625—626; No. 34. p. 639—640.)
- Kooper, W. D.**, Prüfet die Milch mit Alizarol. (Deutsche Milchw. Ztg. Bunzlau. 1914. No. 41. p. 601—603.)
- , Prüfet die Milch mit Alizarol. (Molkerei-Ztg. Berlin. 1914. No. 19. p. 213—214.)
- , Die Bestimmung der Viskosität der Milch als Mittel zwecks Feststellung eines stattgehabten Wasserzusatzes. (Milchwirtsch. Centralbl. 1914. H. 7. p. 169—179; H. 8. p. 201—208.)
- Kühl, Hugo**, Die Borsäure als Milchkonservierungsmittel und ihr Nachweis. (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 1914. Jg. 24. H. 14. p. 329—333.)
- Löhnis, F.**, Die Titration der Milch mit Alkohol von verschiedener Konzentration. (Molkerei-Ztg. Hildesheim. 1914. No. 9. p. 153—155.)
- Meurer, R.**, Über das Biorisatorverfahren und die Leipziger Enzyma-Milch. (Molkerei-Ztg. Hildesheim. Jahrg. 28. 1914. No. 24. p. 413—414.)
- Morres, W.**, Alkoholprobe und Alizarolprobe. (Milchwirtsch. Centralbl. 1914. H. 8. p. 208—211.)
- , Die Bewertung der Alizarolprobe. (Österr. Molkerei-Ztg. 1914. No. 5. p. 70—71.)
- , Einheitliche Säuregrade für die Milchprüfung. (Österr. Molkerei-Ztg. 1914. No. 4. p. 53—54.)
- , Einheitliche Säuregrade für die Milchprüfung. (Milchwirtsch. Centralbl. 1914. H. 9. p. 229—233.)
- Müller-Lenhartz, W.**, Hygienisch einwandfreie Milch, ihre Gewinnung, ihre Behandlung und ihr Wert. In Verbindung mit F. L ö h n i s. 90 p. m. 3. Abbild. u. 5 Taf. Berlin (Parey) 1914. 2 M.
- Rénon, L., Richet, Charles fils et Lépine, André**, Rôle antiseptique des ferments métalliques sur la fermentation lactique (2e note). (Compt. rend. Soc. Biol. T. 76. 1914. No. 9. p. 396—398.)
- Rogers, L. A. and Dahlberg, A. O.**, The origin of some of the streptococci found in milk. (Journal of agric. research. 1914. Vol. 1. No. 6. p. 491—511.)
- Rosenau, M. J., Frost, W. D. and Bryant, Ruth**, A study of the market butter of Boston. (Journ. of med. research. Vol. 30. 1914. No. 1. p. 69—85.)
- Storch, A.**, Beiträge zur Kenntnis der Zusammensetzung der Ziegenmilch. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jahrg. 24. 1914. H. 12. p. 269—272; H. 13. p. 298—309.)
- Teichert, Kurt**, Versuche über die Anwendung gereifter Milch bei der Weichkäse-Herstellung. (Molkerei-Ztg. Berlin. Jg. 24. 1914. No. 23. p. 262—263.)
- Thöni, J.**, Untersuchungen über die hygienisch-bakteriologische Beschaffenheit der Berner Marktmilch mit Berücksichtigung des Vorkommens von Tuberkelbazillen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 74. 1914. H. 1/2. p. 11—69.)
- Tillmans, J., Splittgerber, A. u. Rittart, H.**, Über Bestimmung und Bedeutung des Ammoniakgehaltes der Milch. (Ztschr. f. Unters. d. Nahr.- u. Genußmittel Bd. 27. 1914. H. 1/3. p. 59—76.)
- Tustin, P. B.**, How Winnipeg's milk supply is supervised. (Journ. R. sanitary Instit. Vol. 35. 1914. No. 5. p. 204—210. 2 Fig.)
- Ulrich, Chr.**, Biorisator-Verfahren nach Dr. L o b e c k zur Herstellung einer einwandfreien Trinkmilch. (Milchwirtsch. Centralbl. 1914. H. 10. p. 267—273.)
- Utz**, Über Trockenmilch mit besonderer Berücksichtigung der Bestimmung des Fettgehaltes. (Milchw. Centralbl. 1914. H. 5. p. 115—120.)
- Weigmann, H. und Wolff, A.**, Neue Beobachtungen über die Entstehung des Steckrübengeschmacks der Butter. (Landwirtschaftl. Jahrb. 1914. Bd. 46. H. 3. p. 343—365.)
- Wiegner, Georg**, Über die Abhängigkeit der Zusammensetzung der Kuhmilch vom Dispersitätsgrade ihrer Einzelbestandteile. [2. Beitrag z. Kolloidchemie der Milch.] (Zeitschr. f. Unters. d. Nahr.- u. Genußmittel 1914. Bd. 27. H. 6. p. 425—438.)
- Windisch, Rich.**, Beiträge zur Refraktometrie des Milchserums nach A c k e r m a n n. (Zeitschr. f. Unters. d. Nahr.- u. Genußmittel 1914. Bd. 27. H. 6. p. 466—469.)
- Zaribnicky, Franz**, Über den Einfluß von Krankheiten der Rinder auf die Milch. (Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilk. 1914. Bd. 40. H. 4/5. p. 355—381.)

Wein, Weinbereitung.

- Marcille, R.**, Sur les matières azotées du moût de raisin. (Compt. rend. Acad. Sc. T. 158. 1914. No. 17. p. 1199—1201.)

Bier, Bierbereitung.

- Brown, Horace J.**, Die Stickstofffrage in der Brauerei. (Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. 37. 1914. No. 24., No. 25, No. 26.)
- Engelhard, C.**, Aus der Praxis der Hefereinzucht. (Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. N. F. Jg. 37. 1914. No. 27. p. 345—347.)
- Haas, Bruno**, Weinbau-, Kellerwirtschaft usw. (Ber. über d. Tätigkeit d. k. k. landw.-chem. Versuchsstat. in Wien im Jahre 1913. Wien u. Leipzig, Frick, 1914. p. 38—46. sep. aus: Ztschr. f. d. landw. Versuchsw. in Österreich 1913. p. 325—422.)
- Ling, Arthur R. und Wooldrige**, Über ein verbessertes Brauverfahren. (Journ. of the Instit. of brewing 1914. p. 81; ref. von Windisch in Wochenschr. f. Brauerei. Jg. 31. 1914. No. 21. p. 201—206.) 1 Fig.
- Moufang, Ed.**, Eine verbesserte Braumethode von H. B. Wooldridge, Tottenham, England. (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabr. Jahrg. 42. 1914. No. 22. p. 232—234.)
- Runck**, Das Bierbrauen im alten und heutigen Ägypten. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. N. F. Jahrg. 37. 1914. No. 14. p. 184—187; No. 15. p. 193—197, 49 Fig.)
- Schjerning, H.**, Die Umwandlung der Proteinsubstanzen beim Maischen, Würzekochen und während der Gärung. (Compt. rend. d. Trav. du Laborat. de Carlsberg. Vol. 9 [Livr. 4. 1913]; Allg. Brauer- u. Hopfen-Ztg. 1913. No. 302. p. 3281.)
- Schönfeld, F.**, Der assimilierbare Stickstoff in der Würze und seine Beziehungen zur Hefe und Gärung. (Wochenschr. f. Brauerei. Jg. 31. 1914. No. 21. p. 197—199.)
- Will, H. u. Schimon, O.**, Vergleichende biologische Untersuchung von Brauwasser. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jahrg. 37. 1914. No. 19. p. 249—252; No. 20. p. 261—266.)
- Windisch, W. und ten Doornkaat, K.**, Über die freien und gebundenen organischen Säuren in Würze und Bier. (Wochenschr. f. Brauerei. Jg. 31. 1914. No. 25, 26, 27. 5 Fig.)
- Zikes, Heinrich**, Über Abwasserpilze und die biologische Abwasserreinigung mit Berücksichtigung ihrer Anwendung in der Brauerei [Forts.]. (Allg. Zeitschr. f. Bierbr. u. Malzfabrikat. Jg. 42. 1914. No. 15. p. 145—147.)
- , Über Abwasserreinigung mit Berücksichtigung in der Brauerei [Schluß]. (Allg. Ztschr. f. Bierbr. Jg. 42. 1914. No. 16. p. 157—161.)

Inhalt.

Original-Abhandlungen.

- Gorini, Costantino**, Verbesserte Bereitung von Sauerfutter, p. 261.
- Greaves, J. E., and Anderson, H. P.**, The Influence of Arsenic upon the Nitrogen fixing Powers of the Soil, p. 244.
- Okazaki, Keiichiro**, Beiträge zur Affinität eines neuen weißen Fadenpilzes (*Aspergillus Okazakii*), p. 225.
- Owen, Wm. L.**, Investigation of the comparative Values of various Culture Media for the quantitative Determina-

tion of Microorganisms in Cane Sugar Products, p. 335.

Schroeder, Harold, On a certain Coccus, p. 240.

Wojtkiewicz, A., Beiträge zu bakteriologischen Boden-Untersuchungen, p. 254.

Zweigelt, Fritz, Beiträge zur Kenntnis des Saugphänomens der Blattläuse und der Reaktionen der Pflanzenzellen, p. 265.

Neue Literatur, p. 378.

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagsbuchhandlung **Gustav Fischer** in Jena einzusenden.

Abgeschlossen am 15. September 1914.

Hofbuchdruckerei Rudolstadt.

Centralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 42. No. 15/16.

Ausgegeben am 30. Oktober 1914.

Nachdruck verboten.

Die Bemühungen zur einheitlichen Beschreibung der Bakterien in Amerika.

[Aus den bakteriologischen Laboratorien der University of Illinois, Urbana, Ill.]

Von Otto Rahn und H. A. Harding.

Die Einteilung der Bakterien in Familien, Gattungen, Arten und Varietäten hat vor allem den Zweck, jede Reinkultur mit geringstem Arbeitsaufwand leicht erkenntlich zu machen; sie ist in erster Linie ein Mittel zum Zweck, nicht Selbstzweck. Für diese ursprüngliche Absicht ist es dann auch gleichgültig, auf welchen Eigenschaften diese Einteilung beruht, solange sie nur innerhalb der „Art“ konstant sind. Die primitivste Einteilung würde die am leichtesten bestimmbaren Merkmale als Familieneigenschaften, die schwerer bestimmbaren als Gattungs- und Artmerkmale benutzen. Dieses Grundprinzip ist in den ältesten bakteriologischen Systemen gelegentlich recht deutlich zu spüren. Bald haben sich dann zwei Prinzipien geltend gemacht, die eine logische Begründung der unterscheidenden Eigenschaften anstreben, das morphologische Prinzip und das Prinzip der natürlichen Arten. Das erste Prinzip ist der Ursprung aller der heutzutage gebräuchlichen Systeme. Migula, Fischer, Lehmann und Neumann bestehen darauf, daß bei der Einteilung der Bakterien, gerade so wie bei der Einteilung anderer Lebewesen, nur morphologische Eigenschaften berücksichtigt werden sollen. Die Durchführung dieses Prinzips bei den Bakterien ist unmöglich. Winslow¹⁾ weist darauf hin, daß in den sogenannten rein morphologischen Systemen die Physiologie im weitesten Maße zur Trennung der Arten herangezogen werden muß, und daß das morphologische Grundgesetz zwar bei den Familien und Gattungen durchgeführt ist, bei den Arten aber plötzlich aufhört. Bei der bemerkenswerten Einförmigkeit der Gestalt, trotz größter Verschiedenheit der physiologischen Eigenschaften, bleibt uns weiter keine Wahl. Jensen beruft sich darauf, daß die morphologischen Eigenschaften ja doch die Folge der physiologischen sind, und daß die letzteren daher in erster Linie berücksichtigt werden müssen. Dies wird wohl im großen und ganzen zugegeben werden, doch sind die Beziehungen zwischen Morphologie und Physiologie der Bakterien so kompliziert und unbekannt, daß wir keine Schlüsse ziehen können. Es gibt mit Ausnahme des Mikroskops kein Mittel, um festzustellen, ob eine neu isolierte Reinkultur ein Bacillus ist oder ein Coccus. So kommt es denn, daß Jensen trotz dieser Behauptung die Stellung der Geißeln als ein wichtiges Gattungsmerkmal ansieht. Es ist also zurzeit weder ein rein morphologisches noch ein rein physiologisches System der Bakterien möglich.

Das zweite Prinzip ist das Prinzip der natürlichen Arten oder Gruppen. Das Bestehen solcher Gruppen ist seit langem bekannt, es braucht nur an die Streptokokken, die Coli-Aërogenes-Gruppe, die Clostridien, die

¹⁾ Winslow, C. E. A., The Relationships of the Coccaceae. New York (Wiley) 1908.

Azotobacter-Gruppe, die aërobiotischen Sporenbildner erinnert zu werden. Diese Gruppen zeigen große Übereinstimmung in einer Reihe von Eigenschaften, so daß die einzelnen Vertreter allgemein als nahe verwandte Arten angesehen werden. Unglücklicherweise stimmen die Vertreter solcher Gruppen nicht immer in allen morphologischen Eigenschaften überein, und die „rein morphologischen“ Systeme bringen daher solche verwandte Arten in verschiedenen Gattungen oder gar Familien. Als bekanntestes Beispiel dienen die Milchsäurebakterien, die zwar bei strenger Durchführung der Definition zu den Stäbchenbakterien gehören, aber in allen anderen Merkmalen so genaue Übereinstimmung mit den Streptokokken zeigen, daß eine Trennung als etwas Unnatürliches empfunden wird. Ebenso versagt die Einteilung nach der Begeißelung bei den Coli- und Aërogenes-Varietäten, den sporenbildenden aëroben Langstäbchen und bei den Azotobacter-Arten. Die Trennung der Gattungen nach der Anzahl und Stellung der Geißeln trennt in einigen Fällen Verwandtes und bringt Unähnliches zusammen. Es hat sich daher das biometrische System allmählich Bahn gebrochen, welches eine genaue Messung aller wesentlichen Eigenschaften anstrebt, so daß für jede Gattung, Art und Varietät die Schwankung der einzelnen Eigenschaften angegeben werden kann. Namentlich Winslow hat mit seinem Büchlein über die Verwandtschaftsbeziehungen der Kokken einen entschiedenen Standpunkt eingenommen und die Möglichkeit eines solchen Systems bewiesen, nachdem schon vor ihm Andrews and Horder¹⁾ die biometrische Einteilung der Streptokokken durchgeführt hatten. Dasselbe Prinzip ist inzwischen auf einzelne andere Gruppen, namentlich auf die Coli-Gruppe, erfolgreich angewandt worden. Wir gelangen auf diese Weise zu einem System der natürlichen Bakterienfamilien.

Jensen ist noch einen Schritt weiter gegangen; er hat versucht, die Einteilung der Bakterien auf die natürliche Abstammung und Stammesgeschichte zu begründen. Ein solches System würde absolut sein, wenn es möglich wäre, die Stammesgeschichte über allen Zweifel erhaben festzustellen. Dies ist aber unmöglich.

Es ist ganz offensichtlich, daß Winslows System der natürlichen Gruppen die Vorarbeit sein muß für Jensens Stammesgeschichte. Es ist ferner klar, daß die bisher gebräuchlichen Systeme die Vorarbeit für das System der natürlichen Gruppen sind. Es ist recht wahrscheinlich, daß in absehbarer Zeit das System der natürlichen Gruppen derartig ausgearbeitet werden wird, daß es die anderen „rein morphologischen“ Systeme verdrängen wird, gerade so wie die natürlichen Pflanzenfamilien das System von Liné verdrängten. Aber für eine allgemeine Annahme des biometrischen Systems sind wir zurzeit noch nicht vorbereitet. Es wird noch eine ungeheuere Arbeit kosten, ehe wir genügend Messungen haben, um eine allgemeine Einteilung der Bakterien auf statistischer Grundlage anzufangen. Es sollten doch mindestens 100 Stämme jeder Art genau vermessen werden, um den Durchschnittstypus, die Größe der Abweichung vom Durchschnitt und die Wahrscheinlichkeit der Abweichung festzustellen. Das ist eine Arbeit, die unmöglich von einem einzelnen unternommen werden kann. Wir haben sowohl in Amerika als auch in Deutschland und England verschiedentlich Ansätze zu solchen Unternehmungen, die sich aber notwendigerweise auf kleine Grup-

¹⁾ Lancet. 1906. II. p. 708 und 1415.

pen beschränken mußten. Außerdem wird es sich jedenfalls der Mühe lohnen, ehe man an solche enorme Arbeit herangeht, die zu verwendenden Methoden genau auszuarbeiten, um möglichst vergleichbare Resultate zu erzielen. Das ganze System und Grundprinzip aller dieser Einteilungen wird neuerdings wieder vollkommen in Frage gezogen durch die weitgehendsten Umwandlungen, die Rosenow¹⁾ mit verschiedenen Kokkenformen erzielte. Es gelang ihm, hämolytische in nicht hämolytische Kokken und in kapselbildende Pneumokokken überzuführen, durch verschiedene Mittel, unter denen Tierpassage und ungünstige Lebensbedingungen die wichtigste Rolle spielen. Bei der außerordentlichen Bedeutung dieser Umwandlungen, die geradezu an den „Pleomorphismus“ der sechziger Jahre erinnern, ist eine Wiederholung dieser Versuche dringend erwünscht, da namentlich bei der Tierpassage Irrtümer trotz der Einzellkultur nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden können. Eine Bestätigung dieser Umwandlungen, die durch die vielen neueren Arbeiten über Mutationen recht wahrscheinlich gemacht sind, würde alle bisher benutzten Art- und Familienmerkmale als fast wertlos erscheinen lassen, doch würde es Jahrzehnte dauern, ehe die Grenzen des Pleomorphismus mit Sicherheit bestimmt werden könnten.

Für die praktischen Zwecke des Augenblicks müssen wir also auf die sogenannten morphologischen Systeme zurückgreifen. Leider bestehen nun eine Anzahl solcher Systeme, von denen jedes seine Anhänger hat, und die bei Benutzung der gleichen Gattungsnamen mit verschiedener Definition eine große Verwirrung der Nomenklatur hervorgerufen haben. In Amerika ist dieser Verwirrung dadurch sehr wesentlich abgeholfen worden, daß die Gesellschaft amerikanischer Bakteriologen (Society of American Bacteriologists) das System Migulas angenommen hat. Da diese Gesellschaft mit etwa 250 Mitgliedern Bakteriologen aller Art, Mediziner wie Landwirtschaftler, Pflanzenpathologen wie Gärungsbakteriologen einschließt, so ist dieser Beschluß bis in die weitesten Kreise hinein zu verspüren, und die Einheitlichkeit der Benennung der Bakterien in Amerika sticht von der Mannigfaltigkeit der Namen in der europäischen Literatur sehr vorteilhaft ab. Dazu kommt noch, daß die American Public Health Association sehr genaue Vorschriften für die Ausführung der Wasseruntersuchungen ausgearbeitet hat, die nicht nur von Wasserbakteriologen, sondern auch ganz allgemein in Unterrichtslaboratorien befolgt werden. Da diese Vorschriften sogar die Herstellung der Nährböden einschließen, so ist dadurch für bakteriologische Arbeiten in Amerika eine Einheitlichkeit erzielt worden, die unseres Wissens in Europa nicht zu finden ist, und die uns zur Veröffentlichung dieser Arbeit veranlaßt hat.

Die Notwendigkeit einer einheitlichen Beschreibung der Bakterien ist schon seit langem betont worden, aber solange kein Zwang vorlag, war sie nicht durchzusetzen. Der eine legte Wert auf Blutserum und Milch als beste Nährböden, während der andere Würze und Kartoffel für die wesentlichen Artunterschiede benutzte. Die Gesellschaft amerikanischer Bakteriologen hat da einen wesentlichen Fortschritt erzielt, indem sie ein Schema zur einheitlichen Beschreibung aller Bakterien ohne Rücksicht auf ihre Herkunft annahm. Dieses Schema ist mehrfach geändert und verbessert worden. Die historische Entwicklung dieses Systems ist von Harding²⁾ ausführlich beschrieben worden.

¹⁾ Journ. of Infect. Dis. 1914. H. 1.

²⁾ New York Experiment Station, Geneva, Technical Bull. 13. 1910. p. 1—29.

Auf Anregung von Wyatt Johnson ernannte die American Public Health Association im Jahre 1895 einen Ausschuß, dessen Vorschläge allmählich zu der jetzigen Form der Bakterienbeschreibung führten. Die ersten Vorschläge zur Tabulierung der Eigenschaften stammen wohl von Fuller und Johnson, von Conn und von Gage. Trotz des gleichen Prinzips waren die Methoden sehr verschieden, da z. B. Conn sich wesentlich auf Milchbakterien beschränkte, während Gage sein System nur für Abwasserbakterien benutzte. Diesen ersten Versuchen folgten verbesserte Vorschläge von Gage, Kendall, Conn und Chester. Da die American Public Health Association über die Vorschläge zur bakteriologischen Wasseranalyse nicht hinausgehen wollte, unternahm die inzwischen gegründete Gesellschaft amerikanischer Bakteriologen die Ausarbeitung einer einheitlichen Methode zur Beschreibung aller Bakterien. Der erste Ausschuß, bestehend aus F. D. Chester, F. P. Gorham und Erwin F. Smith, veröffentlichte im Jahre 1905 die erste Karte, die im Jahre 1906 und nochmals 1907 verbessert wurde. Die in der letzten Versammlung 1913 gemachten Vorschläge zur weiteren Verbesserung haben nicht den Beifall aller Mitglieder gefunden, und es gibt daher zurzeit zwei verschiedene Karten, die ältere von 1907 und die neuere von 1913. Die Karte enthält auf der einen Seite eine Aufzählung aller wesentlichen Eigenschaften, die zur Erkennung einer Art notwendig sind. Die Rückseite enthält einige Vorschriften zur Bestimmung einzelner Eigenschaften, eine ausführliche Erklärung verschiedener Ausdrücke zur Beschreibung der Wachstumsform und eine Erklärung der Gruppenszahl. Die Karte im Format 22×26 cm wird von der Gesellschaft amerikanischer Bakteriologen verlegt und kann vom Sekretär der Gesellschaft gekauft werden. Der Verbrauch im letzten Jahre betrug 5329 Stück.

Die folgenden Seiten geben eine Übersetzung dieser Karte, mit einer kleinen Abänderung in der Reihenfolge und unter Fortlassung der Wiederholungen, die zwar beim Gebrauch der Karte notwendig sind, den Leser aber nicht interessieren.

I. Morphologie.

Vegetative Zellen; Nährboden ..
; Temperatur.....°;
 Alter.....Tage.
Form: rund, Kurzstäbchen, Langstäbchen, kurze Ketten, lange Ketten, Fäden, Kommas, kurze Spiralen, lange Spiralen, spindelförmig, keilförmig, gekrümmt.
Größenschwankung:
 Durchschnittsgröße
 Enden gerundet, eckig, konkav.
Hängender Agar-Block { Gruppierung.....
 Ketten (Anzahl der
 Glieder).....
 Richtung der Ketten:
 parallel, unregelmäßig.
Sporangien (Sporen-Mutterzellen).
 Nährboden.....; Temperatur.....°; Alter.....;
 Form: elliptisch, Kurzstäbchen, spindelförmig, keilförmig, trommelschlägerförmig.
 Größenschwankung
 Durchschnittsgröße

Lage der Endosporen: mittelständig, endständig.
Endosporen:
 Form: rund, elliptisch, länglich.
 Größenschwankung
 Durchschnittsgröße
 Sporenwand dick, dünn.
 Sporen-mutterzelle: anhaftend, nicht anhaftend.
 Keimung äquatorial, seitlich, polar, bipolar, durch Streckung.
Geißeln:
 Anzahl....., Stellung: polar, bipolar, peritrich. Färbemethode.....
Kapseln: positiv auf
 Zoogloea, Pseudozoogloea.
Involutionsformen: auf.....
 in.....Tagen bei.....°.
Färbung positiv mit
 1: 10 wäßrigem Fuchsin, Gentianaviolett, Karbolfuchsin, Loefflers Methylenblau.
 Gramfärbung.....Glykogen
 FettSäurefest.....
 Neisser

II. Kultur-Merkmale.**Bouillon**

Oberflächenwachstum: fehlt, Ring, Flocken dünne Haut, feste Membran.

Trübung: fehlt, mäßig, stark; vorübergehend, dauernd; flockig.

Geruch: fehlt, deutlich, erinnert an.....

Bodensatz: spärlich, reichlich, kompakt, flockig, körnig, in Stücken, beim Schütteln zähe.

Agarstrich

Wachstum: unsichtbar, spärlich, gut, üppig

Wachstumsform: fadenförmig, gezähnt, inselförmig, sich ausbreitend, federartig, verzweigt, rankenförmig.

Wachstumsdicke: flach, verschwommen, erhaben, konvex.

Aussehen: feucht, matt, kreidig.

Topographie: eben, terrassenartig, rau, warzig.

Durchsichtigkeit: durchsichtig, undurchsichtig, opalisierend, fluoreszierend.

Farbstoffbildung:.....

Geruch: fehlt, deutlich, erinnert an.....

Konsistenz: schleimig, butterartig, zäh, häutig, lederig, brüchig.

Nährboden verfärbt: grau, braun, rot, blau, grün.

Agarstich

Wachstum: gleichmäßig, oben besser, unten besser, Oberflächenwachstum spärlich, üppig, begrenzt, sich ausbreitend.

Wachstumsform: fadenförmig, perlschnurartig, warzig, haarig, gefedert verzweigt, verflüssigt.

Agarkolonie

Wachstum: langsam, schnell (Temperatur..)

Form: punktförmig, rund, unregelmäßig, amöboid, mycelartig, fadenförmig, rankenförmig.

Oberfläche: glatt, rau, mit konzentrischen Ringen, radial gestreift, unregelmäßig gestrichelt.

Dicke: flach, verschwommen, erhaben, konvex, kissenförmig, mit erhabener Mitte.

Rand: glatt, wellig, lappig, gezähnt, unregelmäßig gezähnt, borstig, flockig, lockig.

Innere Struktur: fein-amorph, grob-amorph, körnig, klumpig, fädig, flockig, lockig.

Gelatinekolonie

wie die Agarkolonie, dazu kommt

Verflüssigung: schüsselförmig, tellerförmig, sich ausbreitend.

Gelatinestich

Wachstum: gleichförmig, besser oben, besser unten.

Stichwachstum: fadenförmig, perlschnurartig, warzig, haarig, federig, verzweigt.

Verflüssigung: schüsselförmig, trichterförmig, sackförmig, horizontal; beginnt amTage, vollständig amTage.

Nährboden verfärbt: grün fluoreszierend, braun,

Kartoffel

wie Agarstrich.

Loefflers Blutserum

wie Agarstrich, dazu kommt Verflüssigung des Serums.

Milch

Aufhellung ohne Gerinnung.

Gerinnung: schnell, langsam, fehlt.

Austreten der Molken beginnt am..... Tage.

Gerinnsel gelöst: schnell, langsam.

Peptonisierung beginnt am.....Tage, ... vollständig am.....Tage.

Reaktion; 1 Tag....., 2 Tag....., 4 Tag....., 10 Tag.....

Konsistenz: Schleimig, fadenziehend, unverändert.

Verfärbung: grün, rot, blau, braun.

Lab: fehlt, vorhanden.

Lackmuskmilch

Reaktion: sauer, alkalisch, erst sauer, dann alkalisch, unverändert.

Lackmusreduktion: schnell, langsam, unvollständig, fehlt.

Stärkekleister

Wachstum: spärlich, üppig.

Stärkeverflüssigung: fehlt, schwach, stark.

Verfärbung:.....

Kieselgallerte (Fermi)

Wachstum: fehlt, spärlich, üppig.

Verfärbung:.....

Cohnsche Nähr-

lösung

Uschinskis Nähr-

lösung

} Wie Kieselgallerte

Stickstoffquelle

Pepton, Asparagin, Glykokoll, Harnstoff, Ammoniak, Nitrat, Stickstoff.

Bester Nährboden für dauernde Kultur.....

Besondere Methoden zur schnellen Erkennung:

.....

III. Biochemische und biophysikalische Merkmale.**Verhalten zu Kohlehydraten**

Gärröhrchen mit Peptonlösung oder zuckerfreier Bouillon +	Dextrose	Laktose	Saccharose	Glyzerin		Nitrat
Gas, in %						
H ₂						
CO ₂						
Wachstum im geschlossenen Schenkel						
Menge der gebildeten Säure	1 Tag	2 „	4 „			

Ammoniakbildung: fehlt, schwach mäßig, stark, durch Säure verdeckt.
Nitratreduktion: fehlt, Nitrit, Ammoniak, Stickstoff.

Indolbildung: fehlt, schwach, mäßig, stark.

Art der gebildeten Säuren:...
Art der gebildeten Alkalien:.....

Art der gebildeten Alkohole:.....

Enzyme: Pepsin, Trypsin, Amylase, Invertase, Pektase, Cytase, Tyrosinase, Oxydase, Peroxydase, Lipase, Glukase, Lab.....

Kristallbildung:.....
Lebensfähigkeit auf Nährböden: schwach, gut.

Widerstandsfähigkeit gegen Salz:% Kochsalz verhindert Wachstum.

gegen Chloroform: Wachstum in Bouillon über Chloroform fehlt, schwach, gut.

gegen Säuren: gut, mäßig, schlecht, (Säure.....)

gegen Alkali (NaOH): gut, mäßig, schlecht.

gegen andere Desinfektionsmittel:.....

gegen extreme Temperaturen
 Tötungstemperatur (10 Minuten in Bouillon).....

Gefrieren:.....% getötet.

gegen Trocknen: schnell getötet, langsam getötet.

gegen Sonnenlicht: empfindlich, nicht empfindlich.

Kardinalpunkte der Temperatur.

Optimum....., **Maximum**....., **Minimum**.....

IV. Pathogenität.

Tierpathogen.....

Pflanzenpathogen.....

Toxin: fehlt, löslich, unlöslich.

Immunität durch Baktericidie, nicht durch Baktericidie.

Verlust der Virulenz auf künstlichen Nährböden schnell, langsam, keine Abnahme inMonaten.

Kurze Charakteristik.

Morphologie	Durchmesser über 1 μ		
	Ketten, Fäden		
	Endosporen		
	Kapseln		
	Zoogloea		
	Beweglich		
	Involutionenformen		
	Gramfärbung		
Kulturmerkmale	Bouillon	trübe	
		Ring	
		Haut	
		Bodensatz	
	Agar	glänzend	
		matt	
		runzelig	
		Farbstoff	
	Kolonie	rund	
		Proteus-ähnlich	
		Wurzelartig	
		fädig	
		lockig	
	Gela.	Oberflächenwachstum	
		Tiefenwachstum	
	Kartoffel	mäßig, fehlt	
		üppig	
		verfärbt	
		Stärke zerstört	
Biochemische Merkmale	Milch	Säuregerinnung	
		Labgerinnung	
	Verflüss.	Gelatine	
		Serum	
		Kasein	
	Bildet	Indol	
		Schwefelwasserstoff	
		Ammoniak	
		Reduziert Nitrat	
Path.	für	Tiere	
		Pflanzen	

Die Bestimmung aller Merkmale in dieser Tabelle erfordert viel Zeit, und die meisten Bakteriologen werden eine Anzahl Merkmale fortlassen. Die Beschreibung ist vielleicht zu umfangreich, und der diagnostische Wert vieler Eigenschaften, wie z. B. der Form der Gelatineverflüssigung und der Kolonien, ist recht zweifelhaft. Eine abgekürzte Form der Karte wird daher augenblicklich vom Ausschuss zur Verbesserung der Karte erwogen.

Die Eintragung der Arteigenschaften in besondere Tabellen ließ bald den Wunsch aufkommen, diese Eigenschaften in möglichst kurzer und allgemein verständlicher Weise zu bezeichnen. Der Vorschlag, ein Ziffernsystem auszuarbeiten, bei dem jede Ziffer eine bestimmte Eigenschaft darstellt, ist zuerst von Johnson 1895 vorgeschlagen, und dann von ver-

schiedenen Bakteriologen weiter verarbeitet worden. G a g e benutzte solches Ziffernsystem wohl als erster für Wasserbakterien. Die Gesellschaft amerikanischer Bakteriologen hat ein Ziffernsystem angenommen, daß aus zehn Ziffern besteht, die hinter dem Gattungsnamen nach *Migula* gesetzt werden. Bact. 121. 2 321 023 ist die Beschreibung für *Bacterium mycoides*, während B. 222. 1 111 021 *Bacillus coli* ist. Diese Art der Beschreibung ist gelegentlich verspottet worden, doch ist dies zu Unrecht geschehen, denn dies Ziffernsystem ist doch schließlich weiter nichts als eine Art Stenographie der wesentlichsten Eigenschaften, und die allgemeinere Anwendung der Methode würde bei Beschreibung der Bakterien viel Zeit und Raum ersparen. Bei der Bearbeitung einer größeren Anzahl Reinkulturen ist die Anordnung der Bakterien nach ihrer Gruppenzahl ein sehr bequemes Hilfsmittel zu deren Einteilung nach Arten. Ähnliche Bakterien fallen zusammen, und gleiche Bakterien werden im allgemeinen die gleiche Ziffer haben. Die Methode hat alle Nachteile des „rein morphologischen“ Systems, aber keine größeren. Daß die Gruppenzahl gelegentlich eine Art in zwei verschiedene Ziffern zerteilt, kann schon vorkommen; es hängt hier sehr viel von der Definition des Wortes „Art“ ab. Andererseits werden gelegentlich zwei Bakterien in dieselbe Gruppe fallen, die wir gewöhnlich als zwei verschiedene Arten auffassen. Wahrscheinlich wird dies bei den aerobiotischen Sporenstäbchen der Fall sein, die fast alle mit den Ziffern 121.23230 anfangen. Es muß diese Ziffernbezeichnung nicht so aufgefaßt werden, daß mit den 10 Ziffern die Beschreibung vollständig und weiter nichts hinzuzufügen wäre. Es sollen nur die wesentlichsten, zur Bezeichnung der Art wichtigsten Eigenschaften in knappster Weise gekennzeichnet werden.

Auch ist die Auswahl der hier eingeschlossenen Eigenschaften durchaus nicht als die unbedingt beste anzusehen. Die Verff. glauben, daß eine Verbesserung der Auswahl nicht nur möglich, sondern sogar wünschenswert ist. Z. B. sind die Reservestoffe, die nach A. M e y e r und seinen Schülern bei den aeroben Sporenstäbchen so ausgezeichnete Dienste leisten, gar nicht berücksichtigt. Doch sollten Verbesserungen nur sehr vorsichtig vorgenommen werden, da eine zu schnelle Änderung große Verwirrung verursachen würde. Die Hauptsache ist hier, wie bei allen anderen Methoden zur Bakterienbeschreibung, die Einheitlichkeit. Ein unbeholfenes System ist besser als drei verbesserte. Der von der Gesellschaft Amerikanischer Bakteriologen ernannte Ausschuß zur Revision der Karte wird sich auch mit der eventuellen Veränderung der Gruppenzahl zu beschäftigen haben. Ein sehr konservatives Vorgehen ist da durchaus am Platze, und Veränderungen sollten nur auf Grund sehr ausführlicher Versuche vorgeschlagen werden.

Das Ziffernsystem zur kurzen Beschreibung der Haupteigenschaften einer Bakterienkultur ist folgendes:

Endosporen: 100	
Keine Endosporen: 200	
Streng aerob: 10, Fakultativ anaerob: 20	
Streng anaerob: 30	
Gelatine verflüssigt: 1	
Gelatine nicht verflüssigt: 2	
Dextrosegärung: Säure und Gas: 0,1, Säure ohne Gas: 0,2	
Keine Säure gebildet: 0,3, kein Wachstum 0,4	
Milchzuckergärung: Säure und Gas: 0,01, Säure ohne Gas: 0,02, keine Säure: 0,03, kein Wachstum: 0,04	

Rohrzuckergärung: Säure und Gas: 0,001, Säure ohne Gas: 0,002, keine Säure: 0,003, kein Wachstum: 0,004			
Nitratreduktion: mit Gasbildung: 0,0001, nicht reduziert: 0,0002, reduziert ohne Gasbildung: 0,0003			
Farbstoffbildung:			
fluoreszierend:	0,000 01	violett	0,000 02
blau	0,000 03	grün	0,000 04
gelb	0,000 05	orange	0,000 06
rot	0,000 07	braun	0,000 08
rosa	0,000 09	farblos	0,000 00
Stärkeverzuckerung auf Kartoffel: stark 0,000 001, schwach 0,000 002, fehlt: 0,000 003			
Glyzerin-gärung: Säure und Gas: 0,000 000 1, Säure ohne Gas: 0,000 000 2, keine Säure 0,000 000 3, kein Wachstum 0,000 000 4.			

Ein weiteres Mittel zur einheitlichen Beschreibung der Arten ist die Vorkultur. Es handelt sich einfach darum, alle Bakterien auf bestimmten Nährböden zu züchten, ehe die Bestimmung der Eigenschaften nach den oben erwähnten Methoden vorgenommen wird. Es hat sich herausgestellt, daß durch gleichmäßige Ernährung Bakterien, die erheblich voneinander abweichen, oft zur vollständigen Übereinstimmung der Eigenschaften gebracht werden können. Derartige Bakterien müssen wir notwendigerweise als zwei Varietäten einer Art ansehen. Da diese Annäherung durch eine genau geregelte Vorkultur möglich ist, so sollte sie in allen Fällen, wo eine Bestimmung der Arten beabsichtigt ist, durchgeführt werden. Die Methode ist zuerst von der American Public Health Association für die Bestimmung der Wasserbakterien vorgeschlagen worden, und ist von der Gesellschaft Amerikanischer Bakteriologen angenommen. Die Methode verlangt die Übertragung von Agar in Bouillon, Plattengießen nach 3 Tagen in Gelatine und neue Isolierung in Agar; diese Agarkultur wird dann als Stammkultur zur Beimpfung der verschiedenen Nährböden benutzt.

Ob gerade die hier genannten Nährböden für alle Bakterien die geeignetsten sind, läßt sich bezweifeln. Ob nicht durch mehrmalige Übertragung auf dem gleichen Nährboden eine noch größere Übereinstimmung der Eigenschaften zu erzielen wäre, sollte ebenfalls untersucht werden. Die hier ausgearbeitete Methode galt ursprünglich nur für Wasserbakterien und ist nach H. J. Conn für viele Bodenbakterien nicht gut anwendbar. Solange keine ausführlichen Versuche in größtem Stile vorliegen, sollten wir dem hier schon mehrfach betonten Grundsatz folgen und den kleinen Vorteil der besonderen Methode wegen des großen Nachteils der Komplizierung aufgeben, bis sich ein allgemein annehmbarer Mittelweg gefunden hat.

Die Verf. beabsichtigten, in dieser Abhandlung auf die Vorteile hinzuweisen, welche die Bakteriologie in Amerika durch Zusammenarbeiten der Bakteriologen und durch Einigung auf eine bestimmte Methode erzielt hat. Die große Einheitlichkeit der Benennung der Bakterien in amerikanischen Lehrbüchern sticht sehr vorteilhaft gegen die Vielheit der deutschen und französischen Bücher ab. Die Methode ist nicht ideal, ist vielfach und mit Recht angegriffen worden, und bedarf dringender Verbesserungen. Deshalb hat auch die Gesellschaft amerikanischer Bakteriologen wiederum einen Ausschuß zur Revision der Karte gewählt, bestehend aus den Herren H. A. Harding, Urbana, Illinois, H. J. Conn, Geneva, New York, H. W. Hill, Minneapolis, Minn., Israel Kligler, American Museum of Natural History, New York City, und Otto Rahn, Urbana, Illinois. Jeder dieser

Herren wird Vorschläge zur Verbesserung und Vereinfachung der Bakterienbeschreibung dankbar annehmen und dem Ausschuß unterbreiten. Die Verff. sind der Ansicht, daß ohne sehr umfangreiche neue Unternehmungen eine wesentliche Verbesserung der jetzigen Systeme nicht zu erzielen sein wird, da die bisherigen Erfahrungen und Tatsachen offenbar unzureichend sind. Unglücklicherweise wird dieser so wichtige Teil der wissenschaftlichen Bakteriologie von fast allen Vertretern der angewandten Bakteriologie sehr vernachlässigt, und andere als „angewandte“ Bakteriologie gibt es doch heutzutage, wenigstens offiziell, überhaupt kaum. Es ist also recht wahrscheinlich, daß es noch viele Jahre dauern wird, ehe wir die jetzigen Systeme durch ein neues, sorgfältig durchgearbeitetes und allgemein brauchbares ersetzen können. Bis dahin sollte, um der großen Verwirrung der Nomenklatur nach Möglichkeit zu steuern, Einigung auf ein System und auf eine Methode der Beschreibung angestrebt werden, weil nur so ein Forscher dem anderen seine Erfahrungen in eindeutiger Sprache mitteilen kann. In Amerika ist damit ein guter Anfang gemacht worden.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die Mikrofauna der Böden aus Reisgegenden.

[Hygienisches Institut der Kgl. Universität zu Turin. Leiter: Prof. Dr.
L. P a g l i a n i.]

Von Dr. A. C a u d a und Dr. G. S a n g i o r g i.

Mit 6 Diagrammen i. Text.

Die in der ausländischen Literatur der letzten Jahre niedergelegten Untersuchungen über die Mikrofauna des Erdbodens [F r a n c è¹⁾, W o l f f²⁾, R a h n³⁾, K i l l e r⁴⁾, C u n n i n g h a m und L ö h n i s⁵⁾] haben auch uns veranlaßt, Untersuchungen anzustellen über die Kleinlebewelt der Böden unserer Gegenden (Reisfelder von Piemont und der Lombardei), die unseres Wissens bis heute noch nicht vorgenommen worden sind. Diesen Untersuchungen lag der Zweck zugrunde, die Mikrofauna verschiedener und verschiedenartig bebauter Felder zu erforschen und etwaige Unterschiede in der Menge und Art der die Mikrofauna dieser verschiedenen Felder ausmachenden Bodenkleinlebewesen festzustellen. Andererseits sollten diese Untersuchungen auch ganz besonders einen Beitrag liefern zur Zählung der Bodenprotozoen (mit der sich unter anderen auch R a h n [l. c.] und K i l l e r [l. c.] beschäftigt haben) und zur vergleichenden Prüfung der verschiedenen Züchtungsmittel, die zur Züchtung der Bodenprotozoen in vitro in Vorschlag gekommen sind, eine Seite des Problems, der ganz besonders K i l l e r und neuerdings auch C u n n i n g h a m und L ö h n i s (l. c.) in einer ausgezeichneten Arbeit ihre besondere Aufmerksamkeit zugewandt haben.

¹⁾ F r a n c è, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 32. 1911—1912.

²⁾ W o l f f, ebenda. Bd. 33. 1912.

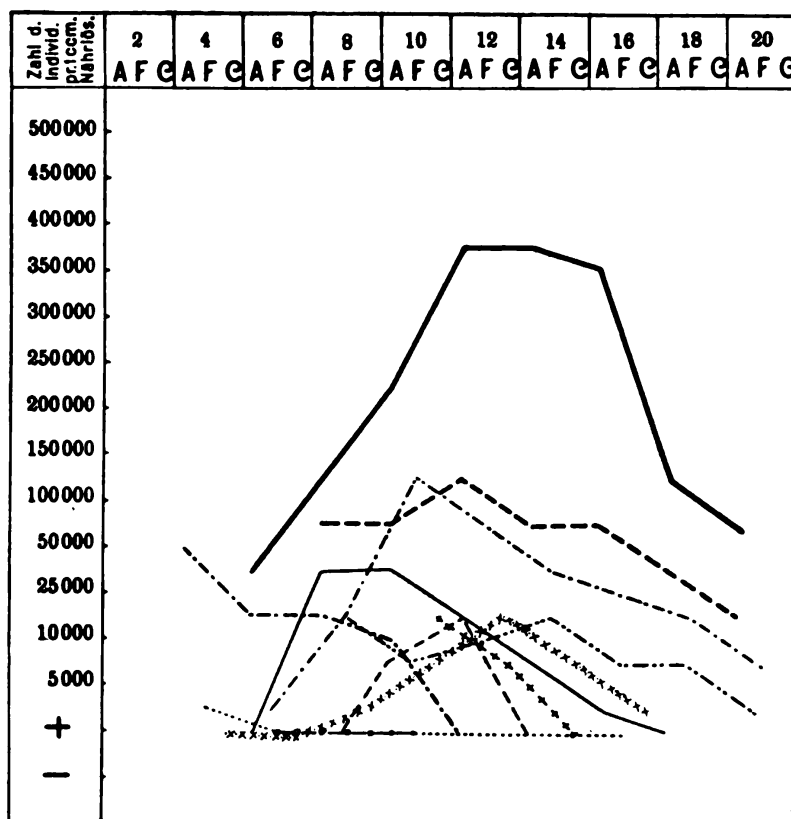
³⁾ R a h n, ebenda. Bd. 36. 1913.

⁴⁾ K i l l e r, ebenda. Bd. 37. 1913.

⁵⁾ C u n n i n g h a m u. L ö h n i s, ebenda. Bd. 39. 1914.

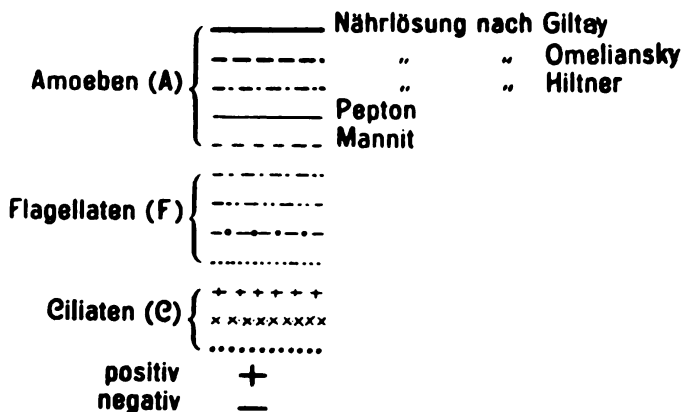
Wir haben zu diesen Untersuchungen 6 Bodenproben herangezogen, die in einer Tiefe von 20 cm an verschiedenen Stellen der Reisfelder von Vercelli und Mortara entnommen worden sind. Die 1. Probe stammte aus

Nach Tagen



1. Bodenprobe.

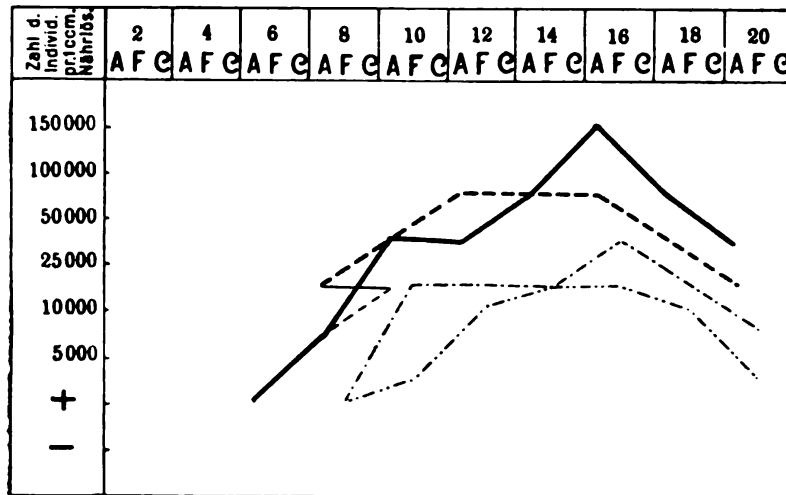
Erklärung der Diagramme.



einem mit Klee bebauten Boden (Vercelli), die 2. aus einem Wiesenboden (Vercelli), die 3. aus einem zur Abwechslung mit Reis bestellten Feldboden (Vercelli), die 4. aus einem Rieselfeldboden (Mortara), die 5. aus einem vorübergehend mit Reis bestellten Boden (Mortara) und die 6. aus einem nach Reis mit Korn bebauten Boden (Mortara).

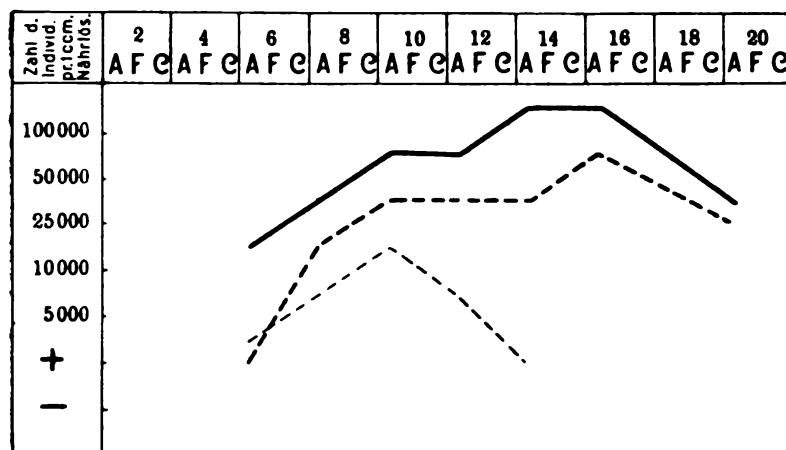
Nachdem wir dann zuerst mit einigen zur Orientierung ausgeführten einleitenden Versuchen die mehr oder weniger große Tauglichkeit der bekanntesten Züchtungsmittel erprobt hatten, haben wir uns für die Nährlösung nach O m e l i a n s k i, für die Nährlösung nach G i l t a y, für die Nährlösung nach H i l b n e r (100 ccm Leitungswasser, 1 g Pepton und 1 g Salpeter), für die Peptonzersetzung-Nährlösung (100 ccm Leitungswasser und 1 g Pepton), sowie für die Stickstoffassimilation-Nährlösung (100 ccm Leitungswasser, 2 g Mannit und 0,05 g Kaliumphosphat) entschieden.

Nach Tagen



2. Bodenprobe.

Nach Tagen



3. Bodenprobe.

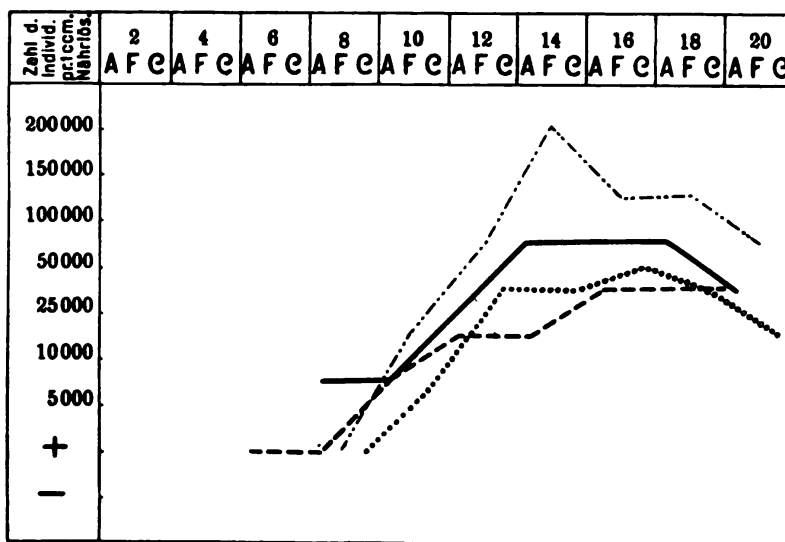
Die von uns zur Züchtung und Zählung der Protozoen ausgedachte Technik ist nachfolgende:

1. Herstellung eines Extrakts im Verhältnis von 1 : 10 (mit derselben zur Einsaat bestimmten Nährlösung) mit der zu erforschenden Erdbodenprobe.
2. Herstellung von Verdünnungen im Verhältnis von 1 : 100, 1 : 1000, 1 : 10 000, 1 : 100 000 des Bodenextraktes mit der Nährflüssigkeit (die Entwicklung ging also gleichzeitig in 4 verschiedenen Verdünnungen derselben Nährlösung vor sich, von denen je 10 ccm zur Inkubation bei einer Temperatur von 20—22° C in kleine E r l e n m e y e r s c h e Kolben kamen).

3. Alle 48 Stunden Untersuchung eines Frischpräparats und eines in absolutem Alkohol fixierten und nach Giemsa gefärbten Präparats. Besagte Präparate wurden mit je einem Tropfen (von vorher bestimmtem Volumen) einer jeden der Verdünnungen hergestellt und dabei besonders auf vorhergehende gleichmäßige Verteilung der Verdünnung gesehen.

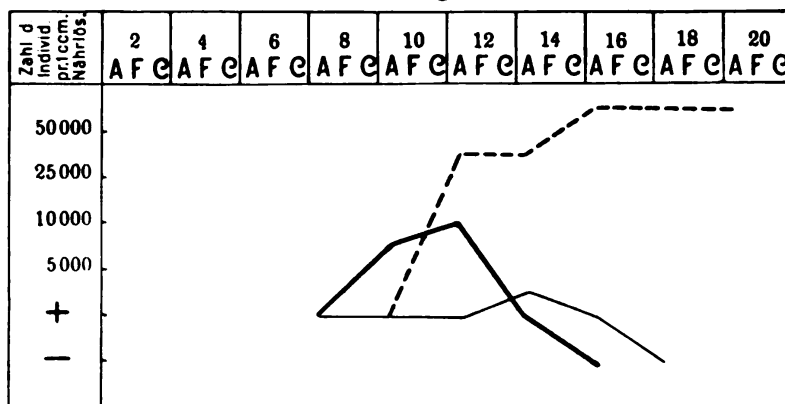
4. Gleichmäßige Verteilung des zur Herstellung des gefärbten Präparats bestimmten Bodentropfens auf einer Fläche von 400 qmm eines eigens dazu hergerichteten Objektträgerglases.

Nach Tagen



4. Bodenprobe.

Nach Tagen



5. Bodenprobe.

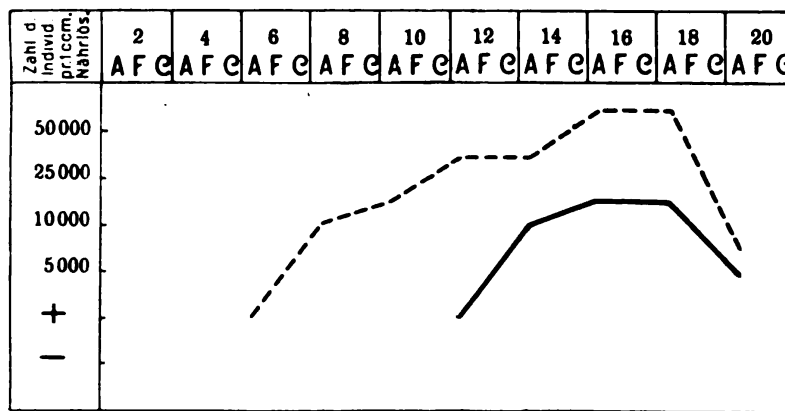
5. Zählung der einzelnen Arten von Protozoenformen, die in einer bestimmten Anzahl von Feldern vorgefunden worden sind, und Multiplizierung der erhaltenen Durchschnittszahl mit 400. Mit der so erhaltenen Zahl, die die Menge der in einem Tropfen Nährflüssigkeit enthaltenen Formen zum Ausdruck brachte, gelangte man dann zu der in 1 ccm jeder Verdünnung enthaltenen Anzahl von Lebewesen.

6. Die den 4 Verdünnungen entspringende Durchschnittszahl hat uns sodann die Linie geliefert, die uns in den Diagrammen den Entwicklungsgang der einzelnen Protozoenformen, Amöben (A), Flagellaten (F), Ciliaten

(C) in einer in jener bestimmten Nährflüssigkeit befindlichen Bodenprobe angibt.

Bei Verfolg der Entwicklung der Protozoen der verschiedenen von uns eingesäten Böden in den verschiedenen Züchtungsmitteln und in einem Zeitraume von 20 Tagen sind wir zu Feststellungen gelangt, die mitgeteilt zu werden verdienen. Wir haben z. B. wahrnehmen können, daß bei Verwendung der Omelianskischen¹⁾ und Giltay'schen Nährflüssigkeit die Entwicklung üppiger war, sowie daß diese Entwicklung gewöhnlich, was die Stärke und die Dauer anbetrifft, mit einem so harmonischen Parallelismus abgelaufen ist, daß wir wohl diese beiden Züchtungsmittel bei Abgabe eines Urteils über das quantitative und qualitative Bild der die Mikrofauna eines gegebenen Bodens ausmachenden Bodenlebewesen für musterhaft erklären können. In diesen Nährmitteln läßt sich im allgemeinen von den ersten Tagen des Verweilens im Brutofen an eine üppige Entwicklung wahrnehmen, die während der ganzen Beobachtungszeit fortbestanden hat, was

Nach Tagen



6. Bodenprobe.

also noch einmal zugunsten der Anschauung jener Forscher sprechen würde, die annehmen, daß die Protozoen auf Kosten der Bakterien leben. In den anderen Mitteln dagegen, in denen die Mikroflora spärlich ist, oder wo der Einwirkung besonderer Bakterien zufolge besondere Veränderungen im Nährmedium vor sich gehen (Buttersäuregärung, Alkoholgärung, Erzeugung von Ammoniak usw.), ist die Entwicklung der Mikrofauna spärlich oder hört ganz und gar auf. Es scheint demnach die Zusammensetzung des Mediums einen bestimmten Einfluß auf die Entwicklung der Protozoen auszuüben.

In diesem Sinne haben sich neuerdings auch Killer, sowie Cunningham und Löhnis ausgesprochen.

Wie aus den Diagrammen hervorgeht, beginnt die Entwicklung der verschiedenen Protozoenformen gewöhnlich am 6.—8. Tage des Verweilens im Brutofen. Nur selten kann diese Entwicklung auch früher eintreten (z. B. am 4. Tage (Ciliaten in der Nährlösung für Stickstoffassimilation, siehe

¹⁾ Besonders die Omelianskische Flüssigkeit eignet sich vorzüglich nicht nur zur Züchtung von Amöben, sondern auch zur Züchtung von Flagellaten und Ciliaten; in einem Falle (4. Probe, siehe Diagramme) haben wir sogar die Entwicklung aller 3 Protozoenformen in dieser Flüssigkeit festzustellen vermocht, dagegen in der Giltay'schen Flüssigkeit, die besonders für die Entwicklung der Geißelinfusorien für geeignet gilt, nur die Entwicklung von Amöben.

1. Probe) oder später (zwischen dem 10. und 12. Tage (Amöben in der Nährlösung nach Omelianski, sowie in der Nährlösung nach Giltay, siehe 5. bzw. 6. Probe). Die Entwicklung schreitet mehr oder weniger üppig aufsteigend bis zum 14.—16.—18. Tage fort, dann nimmt sie gewöhnlich infolge Enzystierung oder allmählichen Verschwindens der Individuen ab. Der Rückgang findet in den meisten Fällen und in fast allen Nährmitteln langsam und allmählich statt; nur in einem Falle haben wir eine plötzliche Abnahme im Zeitraume von nur 2 Tagen, bei den in der Giltayschen Nährlösung gezüchteten Amöben der ersten Probe wahrnehmen können. Unter den Protozoenformen sind die Amöben diejenigen, die niemals fehlen; sie können sogar derart zahlreich werden, daß sie das Bild beherrschen. Nur in einem Falle (siehe 4. Probe) waren die Flagellaten zahlreicher als die Amöben. Die Flagellaten und Ciliaten dagegen können ganz fehlen.

Daraus ergeben sich also hervorstechende Unterschiede zwischen den verschiedenen Bodenproben in Hinsicht auf das numerische und quantitative Bild ihrer Mikrofauna. Neben Böden (siehe 1. und 4. Probe) mit reichster, aus Vertretern aller 3 Protozoenformen bestehender Mikrofauna finden sich da andere mit einer verhältnismäßig spärlichen, nur aus Amöben (3., 5., 6. Probe) oder aus Amöben und Flagellaten (2. Probe) bestehenden Mikrofauna.

Sehr bemerkenswert ist schließlich auch die Tatsache, daß die aus sehr weit voneinander entfernten (die eine von Vercelli, die andere von Mortara), aber in derselben Weise bebauten Stellen herrührenden (abwechselnd mit Reis) Proben ein und dieselbe Mikrofauna aufgewiesen haben, nämlich nur Amöben. Wenn wir die Menge der Formen beiseite lassen, die natürlich nur einen relativen Wert haben kann, so tritt uns in diesem Fall angesichts der vollen Übereinstimmung des quantitativen Bildes der Mikrofauna der in derselben Weise bebauten Felder der Gedanke nahe, daß die Art der Bebauung in dem Boden bestimmte direkte oder indirekte Einflüsse erzeugt, wodurch nur bestimmten Individuen und keinen anderen die Möglichkeit zum Leben gegeben ist.

Mit anderen Worten, auch wir huldigen der Anschauung, daß außer den Faktoren des Zusammenlebens mit Mikrophytogeobionten und außer den physischen, chemischen, geologischen Faktoren in dem Boden noch andere besondere Faktoren bestehen, die in der Natur seiner Vegetation liegen, welche ganz besondere Einflüsse auf die Lebensfähigkeit der tierischen Bodenkleinlebewesen ausüben.

Turin, Juni 1914.

Nachdruck verboten.

Micrococci causing red Deterioration of salted Codfish.

By Karl F. Kellerman,

Bureau of Plant Industry, Washington, D. C.

With 2 Textfigures.

During the warm summer months the salt fish packing industries suffer a more or less severe loss, occasionally amounting to hundreds of thousands of dollars, from the contamination and spoiling of dried or partially dried fish. Various microorganisms may cause deterioration: a few species of fungi or

molds and several species of bacteria have been recognized as troublesome in Northern Europe; in Norway serious loss has been caused almost exclusively by molds which frequently have produced extensive "freckling" of the flakes of fish exposed for drying in the open air. On the Atlantic Coast of the United States little or no trouble is experienced from the growth of molds, yet the bacteria causing the red or reddish salmon-colored stains develop luxuriantly upon the partially dried codfish, both before and after it is packed for the market.

Different investigators reporting upon probable causes of reddened fish have suggested various organisms as the causal agents in this deterioration, and various errors both of description and of citation now occur in the literature. Farlow¹⁾ in the Report of the United States Commission of Fish and Fisheries for 1878 reported that the cause of the red discoloration was the alga *Clathrocystis roseo-persicina* Cohn; in 1886 while still holding to this idea he discussed²⁾ the nomenclature of associated organisms referring especially to a *Sarcina litoralis* as having been described by Poulsen³⁾. Poulsen's description and figure, while not exactly accurate, show clearly that he was describing the salmon-pink micrococcus, and this organism should therefore be designated *Micrococcus litoralis*. The investigations carried on by Le Dantec⁴⁾, as well as those of Ewart⁵⁾ and of Layet⁶⁾ indicate clearly that these investigators were working with other types of organisms, and probably not in pure culture, and therefore do not need to be considered in this discussion. Because of the incomplete and indefinite description Edington's⁷⁾ work is also disregarded. The earliest exhaustive and accurate study of these organisms seems to be that of Christian Høye⁸⁾. From his detailed descriptions it is obvious, that the organism designated by him *Micrococcus a* is identical with Poulsen's *Sarcina litoralis*. Beckwith⁹⁾ has

¹⁾ Farlow, W. G., On the nature of the peculiar reddening of salted codfish during the summer season. (Rep. of the Un. Stat. Commission of Fish and Fisheries for 1878. 1880. p. 969—974.)

²⁾ Farlow, W. G., Vegetable parasites of codfish. (Bull. of the Un. Stat. Fish Commission. Vol VI. for 1886. 1887. p. 1—4.)

³⁾ Poulsen, V. A., Om nogle mikroskopiske Planteorganismer. (Vidensk. Meddel. fra d. naturh. Foren. i Kjobenhavn f. 1879/1880. p. 231—254.)

⁴⁾ Le Dantec, A., Étude de la morue rouge. (Ann. de l'Institut. Pasteur. T. 5. 1891. p. 656—667.)

—, Le microbe du rouge de morue. (Compt. rend. soc. de biol. T. 61. 1906. p. 136—138. abs. Centralbl. f. Bakter. Abt. II. Bd. 19. 1907. p. 326—327.)

⁵⁾ Ewart J. C., Note on the nature of 'red' cod. (Sixth Ann. Rep. to the Fishery Board for Scotland. (Appendix) for 1887. 1888. p. 204—207.)

⁶⁾ Layet, Alexandre, Experimental hygiene. Observations on the red flesh of the codfish. (Bull. of the U. St. Fish Commiss. Vol. 7 for 1887. 1889. p. 90—95.)

⁷⁾ Edington, Alexander, An investigation into the nature of the organisms present in 'red' cod, and as to the cause of the red coloration. (Sixth Ann. Rep. to the Fishery Board for Scotland for 1887. 1888. p. 207—214.) (Appendix.)

⁸⁾ Høye, K. r., Undersøgelser over klipfiskesoppen. (Bergens Museums Aarbog. 1901. No. 7. 2 Hefte. 39 pp. 5. pl.)

—, Undersøgelser over klipfiskesoppen. (Bergens Museums Aarbog. 1904. No. 9. 3 Hefte. 105 pp. 10 text-fig. and 1 pl.)

—, Recherches sur la moisissure de Bacalao et quelques autres micro-organismes halophiles. (Bergens Museums Aarbog. 1906. No. 12. 2 Hefte. 64 pp.)

—, Untersuchungen über die Schimmelbildung des Bergfisches. (Bergens Museums Aarbog. 1908. No. 4, 1 Heft. 29 pp. 10 text-fig.)

⁹⁾ Beckwith, T. D., The bacteriological cause of the reddening of cod and other allied fish. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 60. 1911. p. 351—354.)

described an organism as *Diplococcus gadidarum* which he isolated from reddened fish secured in Gloucester, Massachusetts. From the measurements reported by Beckwith, in spite of the fact that the color described by him is that of *Micrococcus litoralis*, it seems evident that he was dealing with a mixture of this organism and a smaller micrococcus, probably identical with the one described below. His specific name may

therefore be retained for a variatal designation, as *Micrococcus litoralis gadidarum*, of the smaller organism.

The two halophytic red micrococci are slow-growing organisms, often requiring from ten to thirty days at a temperature of 25° C. to make visible growth either upon salted fish or upon artificial culture media. Upon a filtered and sterilized culture medium composed of ten per cent fresh codfish, fifteen per cent sodium chloride, and one and one-half per cent agar it is not especially difficult to isolate pure cultures of these micrococci from portions of reddened fish. Because

Fig. 1.

of their extreme halophytic tendency these organisms obviously cannot be described by reference to the conventional chart of the Society of American Bacteriologists. The following cultural characteristics, however, are believed

to be adequate for accurate identification:

Micrococcus litoralis (Poulsen) n. comb.

Sarcina litoralis, Poulsen 1879.

Clathrocystis roseopersicinia, Farlow 1880.

Diplococcus gadidarum, Beckwith 1911.

The micrococcus varies from 1.2 to 1.6 μ in diameter (Fig. 1). Clumps of several cocci appear, but the diplococci and single cocci are most frequent. It stains well with carbol fuchsin, methylene blue, etc., and is Gram positive. It grows slightly in beef broth and in milk;

in the latter produces a very faint alkaline reaction. It grows fairly well upon beef gelatin but without liquefaction and grows well upon beef agar. Upon salted fish extract agar it forms colonies from 1 mm. to 3 mm. in diameter, salmon pink in color with a slightly paler border. Upon sterile pieces of salted codfish some colonies are formed; they become slimy and slowly increase in size and may even spread over the entire piece of fish. Its rate of growth is

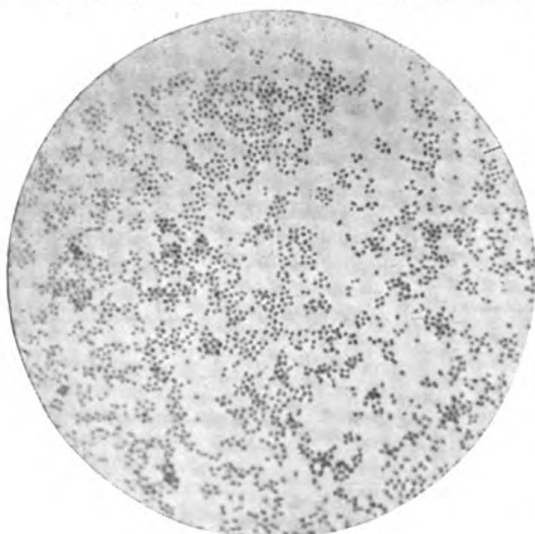


Fig. 2.

slightly more rapid than that of the small micrococcus described below; it is also more resistant to long periods of drying. Some old cultures which were isolated in August, 1907, and allowed to dry out at that time were revived in August, 1911, again dried and revived in March, 1914, and were found to retain their typical characteristics.

Micrococcus litoralis gadidarum (Beckwith), n. comb.
Diplococcus gadidarum, Beckwith, 1911.

The *Micrococcus* varies from 0.35 to 0.5 μ in diameter (Fig. 2). Clumps of several cocci and short chains sometimes occur, although single cells are most frequent. It stains well with carbol fuchsin, methylene blue, etc., and is Gram positive. It does not grow satisfactorily upon standard media though slow growth in beef bouillon or upon beef agar or gelatin sometimes occurs; no acid or gas production or liquefaction of gelatine have been observed. Upon the salted fish extract agar colonies from 0.5 mm. to 2 mm. in diameter and of a brilliant vermilion color are formed when the organisms are in good condition. Weak strains grow scantily and are almost colorless or completely so. Upon sterile pieces of salted soddish the growth is more mucus-like and may spread over considerable areas. It is rather tough and decidedly stringy in consistency. For the first few weeks the red growth remains upon the surface of the fish and does not stain the meat at all; but gradually the stain penetrates the meat and after a few months the entire piece, even to the center has acquired a red tint.

Both organisms are aerobic. They grow especially well when associated and both may be grown in media containing as high as thirty per cent sodium chloride, although the smaller organism grows more freely than the larger at concentrations above twenty per cent. When associated with the various contaminations ordinarily present upon pieces of fish showing the red discoloration, the growth of the red and salmon-pink micrococci is comparatively rapid.

Samples of reddened fish found upon the market in the United States show upon careful examination several other organisms associated with the two chromogenic micrococci described above. Three species of fungi of frequent occurrence are a very small micrococcus of the sarcina type that in pure culture develops an orange color upon the saltfish medium; a micrococcus which produces a lemon-yellow pigment and similar in size to the salmon-pink organism; a colorless organism of the same size; a bacterium from two to four μ long by one μ broad; and a small motile organism that is probably a protozoan. None of these organisms are believed to be of economic importance to the industries of the Atlantic Coast, and they have therefore not been studied exhaustively.

No systems have been developed which are entirely satisfactory in preventing the infection of drying fish with the chromogenic organisms. Thorough cleaning and disinfection of the fishing boats, the piers and drying racks, and especially the packing houses, will materially reduce the opportunities for infection. The strong probability that these organisms grow naturally in salt marshes¹⁾, together with the fact that they can endure extended

¹⁾ Organisms probably identical with *Micrococcus litoralis* have been isolated by Peirce from concentrated brine from the shores of the Bay of San Francisco. Pierce, George James, McDougal D. T., and collaborators. The Salton Sea. Publication No. 193. Carnegie Institution of Washington.

periods of drying without losing their vitality, suggests the impossibility of ever completely eradicating the sources of contamination.

Explanation of figures.

Fig. 1. *Micrococcus litoralis*, isolated from reddened salted codfish 1000 \times .

Fig. 2. *Micrococcus litoralis gadidarum*, isolated from reddened salted codfish 1000 \times .

Photomicrographs made by F. L. Goll, Scientific Assistant, Bureau of Plant Industry, Washington, D. C.

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Kenntnis der Physiologie und Verbreitung denitrifizierender Thiosulfat-Bakterien.

[Aus dem landwirtschaftlich-bakteriologischen Institut zu Göttingen.]

Von Alfred Gehring.

I.

Schon seit geraumer Zeit war es bekannt, daß der Schwefel und seine Verbindungen von Bakterien dazu benutzt werden können, als Energiematerial für den Lebensprozeß zu dienen, daß also der Schwefel in dieser Hinsicht die organischen Kohlenstoffverbindungen ersetzen und den Organismen eine autotrophe Lebensführung ermöglichen kann. Vor allem war es der Schwefelwasserstoff, der ja durch seinen Geruch schon stark auffällt, und der Schwefel, die in dieser Hinsicht untersucht waren.

Bei seinen Untersuchungen über *Beggiatoa* gelang es *Nathansohn*¹⁾ im Jahre 1902 eine neue autotrophe Bakteriengruppe aufzufinden, die als Energiematerial Thiosulfat verwendet, und die sich von anderen Schwefelbakterien noch dadurch unterscheidet, daß bei ihr keine intrazelluläre Schwefelabscheidung erfolgt, sondern nur eine extrazelluläre Niederschlagung des Schwefels stattfindet. Das Thiosulfat wird oxydiert zu Sulfat, und durch den hierbei auftretenden Energiegewinn wird den Bakterien eine autotrophe Lebensführung ermöglicht. Thiosulfate entstehen in der Natur bei der freiwilligen Oxydation von Schwefelwasserstoff und von Sulfiden²⁾, jedoch stellte sich bei späteren Versuchen heraus³⁾, daß auch andere Schwefelverbindungen von diesen Bakterien oxydiert werden können, z. B. H_2S . Nun ermöglicht aber gerade das Thiosulfat bei seiner leichten Wandelbarkeit möglichst schnelle und beträchtliche Umsetzungen. Da außerdem das Natriumthiosulfat sehr leicht rein zu beschaffen ist und so eine einfache und glatte Verwendung zuläßt, da vor allen Dingen auch die ersten Formen dieser Bakteriengruppe in Nährlösungen mit Thiosulfat als Energiematerial nachgewiesen wurden, so erhielt diese Gruppe den Namen der „Thiosulfatbakterien“ oder nach *Omelianski*⁴⁾ „Thionsäurebakterien“.

Die ersten Formen dieser Art wurden von *Nathansohn* im Meeresschlamm nachgewiesen. Sie zeichneten sich durch lebhaftige Beweglichkeit

¹⁾ *Nathansohn*, Mitt. d. zool. Stat. Neapel. Bd. 15. 1902. p. 655 (Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 11. p. 109).

²⁾ *Löhnis*, Handb. d. landw. Bakt. 1910. p. 709.

³⁾ *Beijerinck*, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 11. p. 594.

⁴⁾ *Omelianski*, Lafars Handb. d. techn. Mykol. Bd. 3. 1904/06. p. 239.

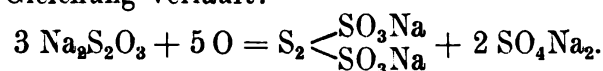
aus und oxydierten das Thiosulfat zu Sulfat und Tetrathionsäure. Durch Zusatz von Traubenzucker und anderen Kohlehydraten zur Nährlösung wurde zwar ihre Entwicklung nicht gehemmt, doch zeigte sich dadurch auch keine Steigerung ihrer Lebenstätigkeit. Sie gediehen gleich gut, wenn man ihnen als Kohlenstoffquelle nur die Kohlensäure der Luft oder irgendein Karbonat zur Verfügung stellte. So folgerte N a t h a n s o h n, daß man „zum mindesten mit großer Wahrscheinlichkeit annehmen darf, daß diesen Bakterien die Fähigkeit, organische Substanzen in einer physiologisch irgendwie in Betracht kommenden Weise zu oxydieren, fehlt, und daß in der Tat hier eine anorganische Verbindung, das Thiosulfat, völlig die Rolle vertritt, die sonst den Kohlenstoffverbindungen im Atmungsstoffwechsel zukommt.“

So zeigte sich deutlich, „daß der Schwefel eine wichtige Rolle im Kreislauf der Natur zu erfüllen hat; denn es ist klar, daß dieses Element in seinen verschiedenen Verbindungsformen in den dunklen Tiefen des Meeres und der süßen Gewässer immerfort tätig ist bei der Neuschaffung von organischer Substanz“¹⁾.

Diese Hauptergebnisse der N a t h a n s o h n schen Arbeit stützen sich auf sehr sorgfältige Versuche, die noch etwas näher besprochen werden sollen. Zunächst die Schwefelumsetzungen.

Als Energiequelle wurde in allen Versuchen das Natriumthiosulfat benutzt. Dies ist nun im allgemeinen ein leicht zersetzlicher Körper. Es zeigte sich aber, daß durch das Sterilisieren der Nährlösung und durch längere Einwirkung von Licht innerhalb von drei Wochen keine Zersetzung des Thiosulfats eintrat; jedenfalls konnte keine Schwefelausscheidung beobachtet werden.

Bei der genauen quantitativen Festlegung des Schwefelumsatzes traf N a t h a n s o h n auf Schwierigkeiten: Die verbrauchte Thiosulfatmenge entsprach nicht der gebildeten Sulfatmenge. Diese Unterschiede ließen sich im Verlaufe der Arbeit aufklären, indem festgestellt wurde, daß neben Sulfat auch noch Polythionsäuren als Oxydationsprodukte auftraten. Aus den Analysenresultaten ging sodann noch hervor, daß die gebildeten Polythionsäuren aus Tetrathionsäure bestehen, und daß der gesamte Schwefelumsatz nach folgender Gleichung verläuft:



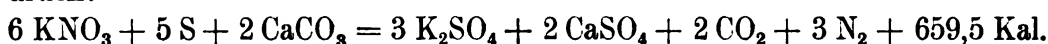
Die von den Bakterien getrennte Kulturflüssigkeit besitzt oxydierende Eigenschaften, wie von N a t h a n s o h n festgestellt wurde. Und zuerst war er geneigt, mit dieser Oxydationswirkung die extrazelluläre Schwefelausscheidung zu erklären. Diese Annahme fand er jedoch nicht ganz bestätigt. Vielmehr gelang es ihm, die Schwefelausscheidung durch eine Reaktion der Tetrathionsäure mit dem Natriumthiosulfat zu erklären, über die er jedoch in der Literatur sich keinen Aufschluß verschaffen konnte. Versetzte er eine schwache Lösung von tetrathionsaurem Natrium mit Natriumthiosulfat, so trat je nach der Konzentration rascher oder langsamer ein Schwefelniederschlag auf.

Über den Kohlenstoffumsatz konnte N a t h a n s o h n feststellen, daß diese Bakterien die Fähigkeit haben, anorganische Kohlensäure zu reduzieren und deren Kohlenstoff zum Aufbau von organischer Substanz zu benutzen. Kulturen mit organischer Substanz ohne den geringsten Kohlensäuregehalt ergaben nicht das geringste Wachstum. Dagegen ließ sich zeigen, daß bei Ausschluß von organischer Substanz bei alleiniger Gegenwart von MgCO_3

¹⁾ Beijerinck, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 11. p. 594.

oder der Kohlensäure der Luft Wachstum eintrat. Bei der Verwendung der Kohlensäure der Luft war das Wachstum allerdings schwächer als bei Zusatz von MgCO_3 ; aber diese Tatsache läßt sich vielleicht so erklären, daß durch den Zusatz von MgCO_3 für die Nährlösung eine günstigere Alkaleszenz erreicht wurde.

Bei seinen Untersuchungen über autotrophe Organismen griff Beijerinck¹⁾ auch auf diese Nathansohnschen Thiosulfatbakterien zurück. Er stellte z. B. fest, daß außer Thiosulfat auch andere Schwefelverbindungen wie Schwefelwasserstoff, Tetrathionat usw. diesen Bakterien als Energiematerial dienen können. Vor allen Dingen gelang es ihm aber, „die Reduktion der Kohlensäure durch Denitrifikation mit Thiosulfat oder freiem Schwefel als Energiequellen festzustellen“. Die energetischen Verhältnisse dieses Lebensprozesses kommen in folgender Gleichung zum Ausdruck:



Der Energiegewinn ist also ziemlich bedeutend. Beijerinck gab dieser Bakterienform den Namen *Thiobacillus denitrificans*; eine weitere Durcharbeitung dieser Form erfolgte aber nicht.

An dieses Tatsachenmaterial schließen sich in neuerer Zeit Untersuchungen von Lieske²⁾ an, und zwar beschäftigte er sich mit der Kultur anaërober, denitrifizierender Thiosulfatbakterien, von denen er vermutet, daß sie mit *Thiobacillus denitrificans* identisch sind. In hohen Standzylindern erhielt er nach einigen Tagen in geeigneter, mit Schlamm beimpfter Nährlösung verschiedene scharf abgegrenzte Platten oder Zonen von Schwefelbakterien, die sich an den Stellen entwickeln, wo sie die passendsten Lebensbedingungen in bezug auf Sauerstoffnahrung finden. Von diesen Formen wählte Lieske diejenige, die sich am weitesten von der Flüssigkeitsoberfläche entfernt absetzte und die dadurch ein sehr geringes Sauerstoffbedürfnis anzeigte.

Nach vielen vergeblichen Versuchen gelang es Lieske, von diesen Formen Reinkulturen herzustellen. Der Form nach waren es „kleine, dünne Stäbchen von ungefähr 1 μ Länge. Mit Säurefuchsin und Methylenblau waren sie leicht färbbar. Eine Sporenbildung konnte nicht beobachtet werden.“ Als sicher konnte festgestellt werden, daß es sich um kohlenstoffautotrophe Formen handelte, auf die ein Zusatz von organischer Substanz aber nicht giftig einwirkte. Als Energiequelle konnten sie außer Thiosulfat auch noch freien Schwefel, Schwefelwasserstoff und unterschwefelsaures Natrium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_6$) verwenden. Alle Schwefelverbindungen wurden zu Sulfat oxydiert. Und zwar entstand das Sulfat nicht unmittelbar, sondern es wurden von den Bakterien alle Oxydationsstufen des Schwefels gebildet und umgesetzt, so daß sie also nicht nur als an eine Schwefelquelle allein angepaßt erschienen, sondern scheinbar den Schwefel in der Gesamtheit seiner Verbindungen zu Sulfat umsetzen können.

Diese hier beschriebene Bakterienform wurde nur im Schlamm des Teiches im Leipziger Botanischen Garten nachgewiesen. Es wurde vermutet, daß sie auch wohl in dem Schlamm des Teiches im Botanischen Garten von Freiburg vorhanden sind, doch wurde dies letzte Vorkommen nicht genauer nachgeprüft. Wie aus der verschiedenen Höhe der Bakterienniveaus hervorgeht, gibt es alle Über-

¹⁾ Beijerinck, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 11. p. 594.

²⁾ Lieske, Ber. d. deutschen botan. Gesellsch. Bd. 30. 1912.

gänge von anaëroben zu vollkommen aëroben Organismen dieser Bakteriengruppe. Die Untersuchungen von **Lieske** wurden aber nur mit einer Art — der extremst anaëroben — durchgeführt. Es gibt nach diesem Forscher „sicher eine große Anzahl von Arten, die einen ähnlichen, vielleicht in den Einzelheiten etwas abweichenden Stoffwechsel besitzen, und es ist daher erwünscht, daß durch neue Untersuchungen unsere Kenntnis über diese, für den Haushalt der Natur bedeutungsvolle Gruppe von Bakterien erweitert wird“.

Diese Kenntnisse zu fördern und vor allen Dingen die Verbreitung dieser Bakterien genauer festzustellen und ihre Physiologie näher zu untersuchen, war der Zweck der vorliegenden Arbeit.

II.

Kapitel I.

Reinkultur der **Lieskeschen Form** aus Schlamm.

Zunächst handelte es sich darum, diese von **Lieske** beschriebene Form in ihrer Verbreitung festzustellen. Als Nährlösung für alle Versuche dieser Arbeit wurde die von **Lieske** angegebene benutzt:

H ₂ O dest.	100 ccm
Na ₂ S ₂ O ₃	0,5 g
KNO ₃	0,5 g
NaHCO ₃	0,1 g
K ₂ HPO ₄	0,02 g
MgCl ₂	0,01 g
CaCl ₂	Spur
Fe ₂ Cl ₆	„

Diese Nährlösung wurde in 45 cm hohe Reagenzröhrchen gefüllt und mit Schlamm geimpft. Die Schlammproben waren teilweise aus der Umgegend von Göttingen, aus dem Teich des Botanischen Gartens zu Göttingen, sowie aus der Umgebung meiner Vaterstadt Hameln. In all diesen Kulturen trat lebhaft Gasbildung auf. Im Gegensatz zu **Lieske** trat hierbei nur ein einziges Mal — und dann nur in sehr undeutlicher Ausbildung — eine Bakterienplatte auf. Worin dieser Unterschied begründet liegt, ob er vielleicht veranlaßt wird durch die Weite der benutzten Röhrchen, in denen häufig ein Aufsteigen von Gasblasen zu beobachten war, welches doch selbstverständlich die Plattenbildung störte, kann ich nicht entscheiden. Diese eine beobachtete Bakterienplatte lag etwa 40 cm unter der Flüssigkeitsoberfläche, und aus dieser Tiefe wurde dann bei den späteren Versuchen immer mittels einer Kapillare abgeimpft. Auch machte sich zwischen der von **Lieske** beschriebenen Bakterienform und der hier gefundenen eine Differenz bemerkbar in der Zeit, die bis zum Auftreten der Gasbildung verging. Es war bei den hiesigen Formen eine erheblich längere Zeit bis zum Auftreten der Gasbildung nötig. Dieser Unterschied soll aber im Zusammenhang mit anderen Tatsachen weiter unten besprochen werden.

Sonst stimmten aber die Bakterien in allen Kulturen mit denen von **Lieske** der Form und Größe nach sehr gut überein. Es waren ebenfalls Stäbchen von ungefähr 1 μ Länge, die sich mit Methylenblau sehr gut färben ließen und bei denen außerdem auch niemals eine Sporenbildung zu beobachten war.

Von diesen Kulturen wurde abgeimpft in 100 ccm **Erlenmeyer-Kölbchen**, die unter Quecksilberschluß standen, ähnlich wie bei Gär-

verschlüssen. Die Kolben wurden mit einem durchlöchernten Stopfen versehen; durch das Loch des Korkes führte ein gebogenes Glasrohr, welches unter Quecksilber mündete. Das Glasrohr wurde ebenfalls mit Nährlösung gefüllt, so daß die ganze Kultur gänzlich vom Sauerstoff abgeschlossen war. Zur Sicherheit wurden die Korkstopfen noch regelmäßig durch einen Paraffinüberzug abgedichtet.

In diesen Kulturen trat ebenfalls nach einigen Tagen — übrigens wieder mit dem Unterschied in der Zeitdauer der Gasbildung, wie er schon erwähnt wurde, Gasbildung auf. Auch hier setzten sich, wie bei *Lieske*, feine Bakterienhäutchen an den Boden und an der Wandung des Kolbens ab, so daß die Flüssigkeit bei flüchtigem Anblick wie getrübt aussah. An diesen Kulturen wurde festgestellt, daß Thiosulfat verschwand (durch Titration mit Jod nach der auf Seite 417 beschriebenen Methode nachgewiesen), daß Sulfat gebildet wurde (durch Fällung des Sulfates als BaSO_4 nachgewiesen), daß Nitrat verbraucht wurde und daß die Bakterien mit Natriumbikarbonat als Kohlenstoffquelle auskamen, also kohlenstoffautotroph waren, wie *Lieske* angegeben hatte. Der Nitratverbrauch wurde quantitativ festgestellt und zwar mit Hilfe der Reduktion mit Zink und Eisen in alkalischer Lösung. Am Anfange des III. Teiles dieser Arbeit wird diese Art der Nitratbestimmung genauer mitgeteilt.

Daß das Thiosulfat wirklich durch Bakterientätigkeit zu Sulfat oxydiert wurde, hatte schon *Nathansohn* gezeigt. Durch Sterilisieren und längeres Stehen an der Luft veränderte sich der Thiosulfatgehalt der Lösung niemals. Auch von mir wurde diese Tatsache nachgeprüft. Aber auch hier konnte das gleiche Verhalten festgestellt werden. Das Thiosulfat zersetzte sich nicht beim Sterilisieren, auch nicht bei Zusatz von Nitrat, Karbonat und Bikarbonat. Das Bestimmen des Thiosulfates erfolgte in der bekannten Weise durch Titrieren mit einer Jodlösung. In dieser Arbeit wurde stets zur Erreichung einer größeren Genauigkeit mit einer 1 : 100 n-Jodlösung gearbeitet.

Dazu wurden von den auftretenden Gasen Analysen gemacht. Allerdings wurde nur das von Rohkulturen gebildete Gas analysiert. Zu den Versuchen wurde ein Gefäß benutzt, welches aus einem weiten Rohr bestand, das oben in eine Kapillare ausgezogen war. Seitlich war ein Steigrohr mit einer größeren Kugel angeschmolzen. Nach dem Sterilisieren des Gefäßes wurde die Flüssigkeit durch die Kapillare geimpft; darauf wurde diese Öffnung zugeschmolzen, wobei gleichzeitig darauf geachtet wurde, daß nur ein ganz kleines Luftbläschen über der Flüssigkeit zurückblieb. Die Flüssigkeitsoberfläche in der Kugel, welche die bei der Gasbildung verdrängte Flüssigkeit aufnehmen sollte, wurde durch darauf geschichtetes sterilisiertes Paraffin von der Luft abgeschlossen. Nach Beendigung der Gasbildung wurde das Gefäß durch einen Gummischlauch mit dem *Hempel* schen Apparat für Gasanalysen verbunden. Im Schlauch wurde sodann die Spitze der Kapillare abgebrochen, und das Gas konnte dann in die Bürette des *Hempel* schen Apparates übertreten.

Bei der Untersuchung des Gases ergab sich, daß nur wenige Prozente aus Kohlensäure bestanden, daß alles übrige reiner Stickstoff war. Sauerstoff ließ sich nicht nachweisen:

Kohlensäure	5,5 %
Stickstoff	94,5 %

Allerdings weichen diese Werte von den durch *Lieske* gefundenen ab, der folgende Prozentgehalte angibt:

Kohlensäure ungefähr 20 %
Stickstoff ungefähr 80 %.

Doch muß man bedenken, daß es sich hier um eine Rohkultur handelt, die allerdings durch 10- bis 12-maliges Überimpfen fast vollständig frei von anderen Bakterien geworden war. Eine Reinkultur war es aber doch auf keinen Fall.

Lieske war die Reinkultur seiner Bakterienform nach mannigfachen Fehlschlägen „schließlich gelungen durch Aufstreichen der Bakterienhaut auf Agarplatten, die mit der angegebenen Nährlösung und 1,5-proz. gewässertem Agar hergestellt waren. Die Bakterien kamen aber nur dann zur Entwicklung, wenn die Platten sich in einer Atmosphäre von sehr geringem Sauerstoffdruck befanden. Die Bakterienkolonien waren im Agar als schwach opalisierende Stellen zu erkennen.“

Auf genau die gleiche Weise wurden auch hier die Reinkulturen erhalten. Der Sauerstoffabschluß wurde erreicht, indem die Petrischalen in eine Wasserstoffatmosphäre gebracht wurden. Der Wasserstoff wurde vorher durch Durchleiten durch Kaliumpermanganatlösung und Schwefelsäure gereinigt. Nach 5 bis 6 Tagen zeigten sich die Kolonien als gelbliche, opalisierende Pünktchen. Daß wirklich sehr streng anaerobe Formen vorlagen, ergibt sich daraus, daß trotz des Abschlusses des Sauerstoffes durch eine mehrere Zentimeter hohe Paraffinschicht kein Wachstum eintrat, wozu doch z. B. Fred¹⁾ bei seinen Versuchen in unserem Institute gezeigt hatte, daß ein solcher Verschuß genügte, um die Leukoverbindung von Methylenblau farblos zu erhalten.

Überblickt man diese Ergebnisse, so darf man mit Sicherheit annehmen, daß die hier vorliegende Bakterienform identisch ist mit der von Lieske benutzten. Damit ist aber auch gleichzeitig die Vermutung von Lieske als richtig nachgewiesen, daß dieser Bakterienart im Schlamm eine ganz allgemeine Verbreitung zukommt, und daß ihren Umsetzungen im Kreislauf des Schwefels wirklich die Bedeutung zukommt, die schon Lieske annahm.

Kapitel II.

Reinkultur der Lieskeschen Form aus Ackererde, Komposterde, Buchenwaldboden und Torf.

Nach der Feststellung dieser Tatsache wurde daran gegangen, diese Bakterienform auch an anderen Standorten nachzuweisen. Es wurden wiederum Anreicherungskulturen angesetzt mit 45 cm langen Reagenzröhren, die mit folgenden Substanzen geimpft wurden: Ackererde und Komposterde aus Göttingen, Erde aus den Buchenwäldungen der Göttinger Umgebung und Hochmoortorf aus Ostfriesland. In allen Kulturen trat nach geraumer Zeit eine Trübung und Gasbildung ein. Auch hier wurde mit einer Kapillare aus 40 cm Tiefe übergeimpft in Erlenneyer-Kolben, die unter Quecksilberschluß standen. Hier trat nach einiger Zeit ebenfalls Gasbildung ein, die Bakterien setzten sich in einem Häutchen sowohl auf den Boden, wie auch den Wandungen des Gefäßes ab. Bei mikroskopischer Beobachtung zeigten die vorhandenen Bakterien fast in Reinkultur dieselben Größenverhältnisse, das gleiche Färbevermögen, wie die aus Schlamm isolierte Bakterienform. Ebenfalls war auch hier keine Sporenbildung zu beobachten.

¹⁾ Fred, E. B., Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 32. p. 421.

Sodann gelang es auch hier nach der von Lieske gegebenen Vorschrift, Reinkulturen von den Formen sämtlicher benutzten Bodenarten herzustellen; die Kolonien traten als kleine gelbliche, opalisierende Pünktchen auf dem Agar auf. Auch diese Formen wuchsen nicht unter Abschluß mit Paraffin, so daß auch sie streng anaërob sind. Allerdings wurden Reinkulturen in Nährlösung von Kompost und Erde nur vereinzelt erhalten. Die Kulturen wuchsen außerordentlich schlecht an. Aber die Tatsache, daß überhaupt wirkliche Reinkulturen einige Male erhalten wurden, genügt ja auch. Ferner konnten alle Bakterienformen in Nährlösungen gezogen werden, die nur anorganische Kohlenstoffquellen enthielten. Somit waren auch diese Formen kohlenstoffautotroph. Selbstverständlich wurde das Thiosulfat zu Sulfat oxydiert und Nitrat verbraucht, wie an mehreren Versuchen quantitativ nachgewiesen wurde.

Aus all diesen vorliegenden Tatsachen wurde der Schluß gezogen, daß auch die Bakterienformen dieser verschiedenen Impfmaterien identisch sind mit derjenigen Bakterienart, die Lieske zu seinen Untersuchungen benutzte. Somit war festgestellt, daß dieser Bakterienform eine ungeahnte Verbreitung zukommt, und daß sie von außerordentlicher Bedeutung ist sowohl für den Umsatz des Schwefels, wie auch der organischen Substanz in der Natur. Denn der bei jeder Fäulnis auftretende Schwefelwasserstoff wird durch diese Bakterien als Sulfat im Boden festgelegt und wird so dem Kreislauf erhalten. Aus dem Sulfat kann dann der Schwefel durch andere Bakterienformen zu Schwefelwasserstoff reduziert oder zum Aufbau von Eiweiß benutzt werden. Ebenfalls wird die durch die Lebensvorgänge entstehende Kohlensäure von diesen Thiosulfatbakterien wieder in den Kreislauf des Kohlenstoffs in der Natur hineingezogen, reduziert und zum Aufbau von organischer Substanz verwendet. Somit erfüllen diese Bakterien eine außerordentlich wichtige Funktion, und ihre allgemeine Verbreitung ist daher von sehr großer Bedeutung.

Kapitel III.

Verbreitung dieser Bakterien in verschiedenen Tiefen von Ackererde und Torf.

Speziell für Ackererde und Torf wurde die Verbreitung dieser Bakterien in den verschiedenen Tiefen des Bodens untersucht. Diese Untersuchungen wurden derartig angestellt, daß gleiche Mengen von Nährlösung mit einer gleichen Menge (es wurde stets die gleiche Platinöse benutzt) von Impfmaterien versetzt wurden, und daß dann beobachtet wurde, wann die erste Gasbildung auftrat. Von ungedüngter Ackererde wurden Proben von der Oberfläche, aus 20 cm und 25 cm Tiefe genommen. Bei allen drei Kulturen trat am siebenten Tage eine gleich starke Gasbildung ein, so daß dieser Boden in den verschiedenen Tiefen eine gleiche Anzahl dieser Thiosulfatbakterien enthält.

Ganz ähnlich wurde es mit Torf aus 5 cm, 40 cm und 50 cm Tiefe gemacht. Auch hier ergab sich nach zwei Tagen, daß in allen drei Kulturen eine gleich starke Gasbildung eingetreten war. Somit war auch im Torf in den verschiedenen Tiefen der Gehalt an Thiosulfatbakterien gleich.

Da hier doch ganz streng anaërobe Formen untersucht wurden, so kann man sich diese Tatsache nur dadurch erklären, daß eben durch das Zusammenleben aërober und anaërober Bakterien solche Bedingungen geschaffen werden, die selbst den strengst anaëroben Formen Leben und Wachstum

an der Oberfläche des Bodens ermöglichen, indem durch die aeroben Formen sofort aller auftretender Sauerstoff verbraucht wird.

Die Tatsache, daß im Torf Denitrifikationsbakterien auftreten, frap-
piert anfänglich, wenn man Angaben findet, daß im Torf überhaupt kein
Nitrat vorhanden sein soll. Z. B. gibt Ritter¹⁾ an, daß er in einer über-
aus großen Anzahl von Hochmoorproben niemals auch nur die geringste
Spur von Nitrat gefunden hat. Dagegen kann festgestellt werden, daß in
dem Torf, mit dem diese Untersuchungen angestellt wurden — es war voll-
kommen unzersetzter und unberührter Torf aus etwa 20 cm Tiefe aus der
Gegend von Leer in Ostfriesland — daß in diesem Torf jedenfalls Nitrat
in einer verhältnismäßig großen Menge vorhanden war, wenn auf Trocken-
substanz umgerechnet wurde. Den genauen Wert der Nitratmenge möchte
ich nicht angeben, weil die Übereinstimmung der Kontrollbestimmungen
nicht sehr gut war. Daß auch wirklich eine Nitratbildung im Hochmoor
stattfinden kann, wurde durch folgende Untersuchung bestätigt: Es fanden
sich in unbehandeltem Hochmoortorf derselben Sorte nach achtwöchigem
Stehen 3,3 mg Nitratstickstoff pro 100 g trockenem Torf, während sich im
Torf, der mit Ammoniumsulfat versetzt war, pro 100 g Trockensubstanz
7,8 mg Nitratstickstoff fanden. Es ergab sich also ein Mehr von 4,5 mg Nitrat-
stickstoff pro 100 g trockenem Torf. Somit war in dem vorliegenden Torf
die Bedingung gegeben, die denitrifizierenden Thiosulfatbakterien ein leb-
haftes Wachstum ermöglichen.

Kapitel IV.

Untersuchungen über die Zahl der Lieske'schen Bakterien in Ackererde, Kom- posterde, Buchenwaldboden und Torf.

Bei diesen Untersuchungen ergaben sich noch gewisse Aufschlüsse über
die Physiologie dieser Bakterien, die teils mit den von Lieske gemachten
Erfahrungen übereinstimmten, teils ganz neu waren.

Wie schon Lieske angegeben hatte, handelte es sich bei der vorlie-
genden Bakterienart um äußerst empfindliche Organismen. Ohne irgend-
einen ersichtlichen Grund, bei nach jeder Hinsicht gleichen Bedingungen
wurden ihre Umsetzungen auf einmal geringer, starben meine Kulturen ab,
oder es erfolgte überhaupt kein Anwachsen mehr. Eine Erklärung für diese
Tatsachen konnte ich ebensowenig wie Lieske finden. Man kann sich
nur denken, daß diese Bakterien, deren ganze energetische Verhältnisse der-
artig spezifiziert sind, so fein auf alle Verhältnisse abgestimmt sind, daß sie
bei jedem kleinsten, äußerlich nicht wahrnehmbaren Verstoß gegen diese
Bedingungen geschädigt werden.

Wie schon im Anfang erwähnt wurde, war die Zeit, die von der Impfung
bis zum Auftreten der Gasentwicklung verstrich, sehr verschieden. Beson-
ders groß waren diese Unterschiede bei den verschiedenen Impfmateri-
alien, die verwendet wurden; am größten z. B. zwischen Schlamm, Torf einerseits
und Erde andererseits. Diese Unterschiede stellten sich auch ein, wenn die
Anfangskulturen mit möglichst gleichen Mengen (wiederum gleiche Plati-
nösen) der verschiedenen Böden beimpft wurden. So konnte man denn aus
diesem Ergebnis darauf schließen, daß die Anzahl der Bakterien in den
verschiedenen Impfstoffen eine verschieden große wäre. Stellt man diese

¹⁾ Ritter, Fühlings landw. Ztg. 1912. p. 593.

verschiedenen Zeitintervalle, die bis zum Auftreten der Gasentwicklung beobachtet wurden, zusammen, so kommt man zu folgender Tabelle:

Torf	2 Tage
Schlamm, Buchenwaldboden	4 „
Ackererde	7 „

Es ergibt sich also die Tatsache, daß die Zahl der untersuchten Bakterien in Erde am kleinsten, im Torf am größten ist. Im Buchenwaldboden, Kompost, Schlamm nimmt sie eine Mittelstellung ein. Dies würde ein Ansteigen der Bakterienzahl bedeuten bei Steigerung des Gehaltes an organischer Substanz des Impfmateriales.

Dieses Ergebnis wurde durch weitere Untersuchungen gestützt. So trat bei einer Kultur, die mit mistgedüngtem Ackerboden geimpft wurde, eine Gasentwicklung nach vier Tagen auf; bei Impfung mit einem jahrelang ungedüngten Boden erst nach sieben Tagen bei gleicher Menge des Impfmateriales. Ferner wurden Versuche mit Erde angesetzt, die mit verschiedenen Mengen von Hühnereiweiß als schwefelhaltiger organischer Substanz versetzt war. Nachdem diese Kulturen einige Wochen im Brutzimmer bei 25° gestanden hatten, wurden von ihnen gleiche Mengen (gleiche Platinösen) zum Impfen in Erle n m e y e r kolben unter Quecksilberabschluß benutzt. Es ergaben sich folgende Resultate:

3% Eiweiß: Gasbildung nach 1 Tage.
1% „ „ „ 2 Tagen.
ohne „ „ „ 7 „

Für alle drei Versuche wurden nach 14 Tagen Nitratbestimmungen der Nährflüssigkeit gemacht. Es ergab sich folgender Nitratverbrauch pro 100 cem Flüssigkeit, wenn in der ursprünglichen Nährlösung 70 mg Nitratstickstoff pro 100 cem Flüssigkeit vorhanden gewesen waren:

3% Eiweiß: alles Nitrat verbraucht.
1% „ 58,8 mg Nitratstickstoff verbraucht
ohne „ 34,0 mg „ „

Die Zahlen zeigen wohl zur Genüge, welchen Einfluß der Gehalt an organischer Substanz auf die Zahl dieser Bakterien an den verschiedenen Standorten hat.

Hiermit soll nun nicht gesagt werden, daß die organische Substanz direkt von Einfluß auf die Thiosulfatbakterien ist, denn Lieske hatte ja nachgewiesen, daß ein Zusatz von organischer Substanz zur Nährlösung die Umsetzungen dieser Bakterien nicht erhöht. Hier soll der Gehalt an organischer Substanz zunächst nur eine Charakteristik der Bodenart vorstellen. Allerdings kann man sich ja denken, daß durch den Zerfall größerer Mengen von organischer Substanz die Menge des für diese Thiosulfatbakterien nötigen Energiematerials erhöht wird. Bekannt ist ja das Auftreten von Schwefelwasserstoff in faulenden organischen Massen. Und außerdem wird durch die größere Menge organischer Substanz auch wohl der Gehalt an Kohlensäure im Boden wesentlich erhöht. Und spätere Versuche zeigen, daß diese Erhöhung wohl von großem Einfluß sein kann. Dies alles wäre dann aber nur eine indirekte Wirkung der organischen Substanz.

Kapitel V.

Unterscheidung von Rassen der **Lieske** schen Bakterienform in den verschiedenen Bodenarten.

In dem vorhergehenden Kapitel war festgestellt, daß bei der Beimpfung einer gleich großen Menge von Nährlösung mit gleichen Mengen von Ackererde, Komposterde usw. Differenzen in dem Auftreten der Gasbildung sich zeigten, die man durch den verschiedenen Gehalt der Böden an Zellen der vorliegenden Bakterienart erklären kann. Impfte man nun aber von diesen Bakterienkulturen eine gleiche Menge von Bakterien von neuem über in eine gleiche Menge von Nährlösung, so traten ebenfalls noch Unterschiede in der Zeitdauer bis zur Gasentwicklung auf, die man nun auf andere Weise erklären muß.

Es ließen sich z. B. folgende Differenzen feststellen:

Torf	2 Tage
Schlamm, Buchenwaldboden, Kompost	3—4 Tage
Ungedüngte Ackererde	5—6 „

Auch hier zeigt sich, daß die Zeit bis zur Gasbildung in Erde am längsten, am kürzesten im Torf und Schlamm ist, daß also auch hier noch eine Kürzung der Zeit eintritt bei steigendem Gehalt des ursprünglichen Impfmateriales an organischer Substanz. Nachdem die Kulturen etwa ein Vierteljahr lang dauernd weiter übergeimpft waren, waren diese Unterschiede gänzlich verschwunden. Diese Tatsache legt die Vermutung nahe, daß in den verschiedenen Impfmaterien wohl verschiedene Rassen ein und derselben Art vorliegen, deren Umsetzungsfähigkeit je nach der Gunst ihrer Standorte steigt oder fällt. Da z. B. die Ackererde im Verhältnis zum Torf doch sehr arm an organischer Substanz ist, scheint sich hier durch Anpassung allmählich eine Rasse ausgebildet zu haben, deren Umsetzungen bedeutend geringer sind als die derselben Bakterienart im Torf oder Schlamm. Auch diese Vermutung läßt sich an der Hand der Nitratumsetzungen näher belegen. In 100 ccm Nährlösung waren 70 mg Nitratstickstoff vorhanden. Davon waren bei Beendigung der Gasentwicklung verbraucht:

durch Torfbakterien	32,4 mg Nitratstickstoff
durch Bakterien aus ungedüngtem Boden	7,6 mg „

Dabei waren beide Versuche, wie schon erwähnt wurde, mit gleicher Bakterienzahl (es wurde stets eine gleich große Öse des Platindrahtes benutzt) geimpft aus Kulturen, die durch mehrmaliges Überimpfen in Thio-sulfatlösungen fast rein die untersuchte Form enthielten. — Es zeigt sich also, daß die Torfbakterien bedeutend kräftiger sind als die Erdbakterien, wodurch die angegebenen Unterschiede in der Zeitdauer, die bis zum Auftreten der Gasbildung verbraucht wird, sehr gut zu erklären sind.

Später noch zu erwähnende Versuche in Erde, Kompost usw. ergeben das gleiche Resultat hinsichtlich der Nitratumsetzungen. So würde sich denn auch die Differenz, die anfangs zwischen den Schlamm-bakterien von **Lieske** und den hier vorliegenden Schlamm-bakterien erwähnt wurde, so aufklären, daß selbst unter den Schlamm-bakterien je nach ihren Standorten Bakterien mit verschiedener Umsetzungsfähigkeit auftreten.

Alle diese Versuche wurden mit Rohkulturen angesetzt. Bei der mikroskopischen Untersuchung dieser Kulturen zeigte sich aber, daß nur ganz vereinzelt andere Bakterien vorhanden waren. So darf man wohl unbekümmert die hier sich ergebenden Resultate auf die in dieser Arbeit speziell behandelte Bakterienart übertragen.

Kapitel VI.

Umsetzungen dieser Bakterienart bei steigendem Thiosulfatgehalt.

Auch die folgenden Untersuchungen wurden mit Rohkulturen ausgeführt, da sie anfangs nur als Vorversuche angestellt wurden. Doch bestehen auch hier für sie die gleichen Verhältnisse bezüglich der Reinheit der Kulturen. Es wurde untersucht, wie die Umsetzungen der Bakterien sich ändern bei steigendem Thiosulfatgehalt, Nitratgehalt usw.; diese Versuche sollten also Aufschluß geben über die Umsetzungen dieser Bakterienart unter wechselnden Bedingungen, wie sie auch wohl in der Natur auftreten können.

Zunächst wurde in Nährlösung untersucht, bis zu welcher Konzentration diese Bakterien das Thiosulfat ertragen können. Und da ergab sich das merkwürdige Resultat, daß erst bei 5 Proz. Thiosulfat kein Wachstum der Bakterien mehr eintrat. Dabei trat die sonderbare Erscheinung auf, daß sich in den höheren Konzentrationen stets eine sehr erhebliche Schwefelabscheidung bemerkbar machte, die man bei der gewöhnlichen Konzentration von 0,5 Proz. Thiosulfat nicht bemerkte. Die Flüssigkeit sah zum Schlusse direkt milchig aus. Scheinbar wurde durch diese lebhaftere Zersetzung des Thiosulfates es den Bakterien ermöglicht, das Thiosulfat in solch hoher Konzentration zu ertragen.

Woher kam nun diese Zersetzung? War die Ausscheidung des Schwefels ein Lebensprozeß dieser Bakterien, oder erfolgte sie rein chemisch? Da die verbrauchte Nährlösung noch neutral reagierte, wurde versucht, ob die bei der Dissimilation entstehende Kohlensäure diese Zersetzung verursachen konnte. Da die Kulturen unter Luftabschluß standen, reicherte sich die Nährlösung natürlich an Kohlensäure an. Und bekannt ist ja¹⁾, daß die Thiosulfate durch nicht allzu verdünnte Mineralsäuren zersetzt werden. Der Versuch ergab denn auch die Richtigkeit dieser Vermutung. Beim Durchleiten von Kohlensäure durch eine 2-proz. Thiosulfatlösung stellte sich nach ganz kurzer Zeit eine lebhaftere Schwefelabscheidung ein. So kann diese Zersetzung durch Kohlensäure wohl dazu dienen, das Leben dieser Bakterien in solch hohen Thiosulfatkonzentrationen zu erklären. Aber selbstverständlich mußten die Thiosulfatbakterien erst angewachsen sein in diesen Nährlösungen, ehe eine Zersetzung des Thiosulfates durch CO₂ erfolgen konnte. Und bis dieses erfolgt war, mußten die Bakterien doch die Fähigkeit besitzen, hohe Thiosulfatkonzentrationen ohne wesentliche Schädigung zu ertragen. Über das Verhalten unbeeimpfter Thiosulfatlösungen vgl. die Ausführungen p. 403 und p. 406.

Daß bei den Thiosulfatbakterien eine extrazelluläre Schwefelabscheidung erfolgt, war von vornherein bekannt. Dieses Merkmal diente ja gerade dazu, die Thiosulfatbakterien von den anderen Schwefelbakterien abzutrennen, die Schwefel intrazellulär abscheiden. Nach Nathanson erklärte sich dieser Vorgang dadurch, daß durch die Bakterien Tetrathionsäure gebildet wird, welche mit Thiosulfat zusammengebracht rein chemisch eine Schwefelabscheidung veranlaßt, wie Versuche von Nathanson ergaben. Beijerinck schloß sich dieser Auffassung nicht an. Er vertrat vielmehr den Standpunkt, daß die Schwefelabscheidung ein Lebensprozeß sei, indem die Bakterien das Thiosulfat in folgender Weise umsetzen: $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 + \text{O} = \text{Na}_2\text{SO}_4 + \text{S}$.

¹⁾ Erdmann, Lehrb. d. anorg. Chem. 1910. p. 272.

Lieske lehnte es ab, sich über diese Fragen zu verbreiten. Auch hier soll eine Entscheidung in dieser Sache nicht gefällt werden. Nur muß man es nach dem obigen Versuch als erwiesen betrachten, daß auch die Kohlensäure einen gewissen Einfluß bei der Ausscheidung des Schwefels neben den anderen Faktoren hat.

Im Anschluß hieran wurde untersucht, wie sich die Nitratumsetzungen bei steigendem Thiosulfatgehalt gestalten. Auch hier wurde der Nitratverbrauch quantitativ mit Hilfe der alkalischen Reduktionsmethode bestimmt, die im III. Teil näher erläutert wird. Die Versuche wurden abgebrochen, nachdem die Gasentwicklung aufgehört hatte, und daher die Umsetzungen beendet waren. Enthielt die Nährlösung 70 mg Nitratstickstoff pro 100 ccm Nährlösung, so wurde bei steigendem Thiosulfatgehalt pro 100 ccm Lösung verbraucht:

0,5%	Thiosulfat	17,8 mg	Nitratstickstoff
2,0%	„	19,2 mg	„
4,0%	„	50,5 mg	„

Es zeigt sich also bei 4 Proz. Thiosulfat ein sehr erhebliches Ansteigen des Nitratverbrauches. Rechnet man allerdings diese Werte auf Nitratzersetzung pro 1 g wirklich verbrauchtes Natriumthiosulfat um, so gelangt man zu folgenden Werten:

0,5%	Thiosulfat	89,0 mg	Nitratstickstoff
2,0%	„	68,0 mg	„
4,0%	„	68,3 mg	„

Wie auch bei anderen bakteriologischen Prozessen, fällt auch hier der Umsetzungsfaktor bei Steigerung der Menge des Energiematerials sehr schnell. Nur in den höheren Konzentrationen wie 2 Proz. und 4 Proz. Thiosulfat ist der Umsetzungsfaktor gleich.

Kapitel VII.

Ersatz des Nitrates durch andere Sauerstoffquellen.

Bei seinen Untersuchungen über nitratzerstörende Bakterien hatte Fred¹⁾ im hiesigen Institut auch das Verhalten dieser Organismen gegenüber Farbstoffen behandelt, um zu untersuchen, welche Substanzen von diesen Bakterien neben dem Nitrat noch als Sauerstoffquellen benutzt werden können. Und in ähnlicher Weise sollte auch die vorliegende Bakterienform untersucht werden.

Zunächst wurde das Verhalten der Bakterien gegenüber Phenolphthalein beobachtet. Die Kulturen wurden in Reagenzröhrchen angesetzt, deren Nährlösung durch Zusatz von Phenolphthalein rot gefärbt war (das Bikarbonat war natürlich durch Karbonat ersetzt). Der Luftsauerstoff war durch eine 2 cm hohe Paraffinschicht abgeschlossen. Zugleich mit dem Auftreten der Gasentwicklung trat auch eine Entfärbung der Kulturen ein. Es war aber keine Zersetzung des Farbstoffes eingetreten; denn durch Zusatz von neuem Phenolphthalein zur Nährlösung erhielt man keine Rotfärbung. Dadurch, daß die Kohlensäure nicht aus der Flüssigkeit entweichen konnte, war vielmehr ein Reaktionsumschlag eingetreten. Diese Tatsache ließ sich dadurch nach-

¹⁾ Fred, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 32. p. 421.

weisen, daß man der Nährlösung neue Karbonatlösung hinzufügte. Sofort trat die Rotfärbung wieder auf. Erst nach Beendigung der Gasbildung trat ganz allmählich wieder eine Rotfärbung der Kultur ein. Der Abschluß der Kultur durch Paraffin war nicht dicht genug, so daß im Laufe der Zeit die aufgespeicherte Kohlensäure aus der Kultur entweicht und die ursprüngliche Reaktion der Nährlösung wieder eintritt. In allem zeigte dieser Farbstoff bei diesen Bakterien das gleiche Verhalten, wie es von F r e d angegeben war.

In jeder Beziehung ähnlich verhielt sich Lackmus, wie auch schon F r e d angegeben hatte. Bei Auftreten der Gasbildung trat eine Rotfärbung auf, bei Nachlassen der Gasbildung ging die Farbe langsam wieder in Blau über. Für Methylenblau hatte F r e d angegeben, daß dieser Farbstoff bei Sauerstoffabschluß durch die Bakterien zur Leukoverbindung reduziert wurde. Erst nachdem die Paraffinschicht entfernt war, trat die blaue Farbe der Lösung wieder auf. Dieses Ergebnis der F r e d schen Untersuchungen konnte leider nicht nachgeprüft werden. Auf die vorliegende Bakterienart wirkte dieser Farbstoff nämlich streng giftig. Obwohl mehrmals die Versuche auch unter anderen Sauerstoffabschlüssen (B u r r i - W r i g h t scher Verschuß, Abschluß durch Wasserstoff) wiederholt wurden, gelang es doch niemals, nur das geringste Wachstum von Bakterien in den schwachen Konzentrationen von Methylenblau zu beobachten. In der Konzentration des zugesetzten Methylenblaus richtete ich mich genau nach den Angaben von K r u s e ¹⁾, der jedem Reagenzröhrchen 1—4 Tropfen einer $\frac{1}{2}$ -proz. Lösung zusetzte. Selbstverständlich wurde zu allen Versuchen chemisch reines Methylenblau (Methylenblau med. pur.) benutzt.

So war bisher kein positives Resultat in der Frage nach einem Ersatz des Nitrates als Sauerstoffquelle erzielt worden. Und weitere Untersuchungen ergaben auch keinen weiteren Aufschluß. Interessant ist ja diese Frage aus mancherlei Gründen. So sind durch C h r i s t e n s e n ²⁾ in fast allen Hochmoorproben denitrifizierende Bakterien nachgewiesen worden, und auch die vorliegende Bakterienart war in Torf reichlich vorhanden, trotzdem doch R i t t e r ³⁾ niemals in Torf Nitrat nachweisen konnte, und C h r i s t e n s e n ⁴⁾ in Impfversuchen niemals nitratbildende Bakterien nachweisen konnte. Da könnte man sich doch den Gegensatz zwischen diesen Befunden so erklären, daß die denitrifizierenden Bakterien im Torf hauptsächlich andere Sauerstoffquellen als Nitrat benutzen. So wurde denn ein Versuch angesetzt, ob vielleicht Sulfate als Sauerstoffquellen für die Thiosulfatbakterien dienen könnten; aber auch hier gab es nur negative Erfolge. Es erfolgte in diesen Kulturen, die neben Thiosulfat 0,2 Proz. Natriumsulfat enthielten, noch nicht einmal ein Anwachsen der Bakterienhäutchen. Diese Tatsache erhält eine Bestätigung in einer kürzlich erschienenen Arbeit von J. V o g e l ⁵⁾, der einen schädigenden Einfluß auf Nitratbildung in Erde konstatieren konnte, wenn er 0,1 Proz. Na_2SO_4 dem Boden zusetzte.

So muß man denn bei diesen denitrifizierenden Thiosulfatbakterien der Annahme zuneigen, daß sie nicht die Fähigkeit haben, andere Sauerstoffquellen als Nitrate auszunutzen.

¹⁾ Kruse, Mikrobiol. 1910. p. 478.

²⁾ Christensen, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 37. p. 414.

³⁾ Ritter, a. a. O.

⁴⁾ Christensen, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 37. p. 414.

⁵⁾ Vogel, J., Die Einwirkung von Schwefel auf die bakteriellen Leistungen des Bodens. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 40. p. 60.)

Kapitel VIII.

Andere Energie- und Kohlenstoffquellen.

Um zu beobachten, ob zwischen Karbonat und Bikarbonat als Kohlenstoffquelle ein Unterschied festzustellen ist, wurde auch nach dieser Hinsicht ein Versuch angestellt. Es ergaben sich folgende Resultate:

	Thiosulfat- verbrauch %	Nitrat- verbrauch mg Nitrat-N
Karbonat	0,36	19,7
Bikarbonat	0,37	22,1

Es zeigt sich also, daß das Bikarbonat wohl ein klein wenig günstiger wirkt als das Karbonat.

Ferner wurde untersucht, wie nun überhaupt der Denitrifikationsprozeß dieser Bakterien verläuft. Es ließ sich feststellen, daß zunächst von diesen Bakterien Nitrit gebildet wurde, welches sodann zu freiem Stickstoff weiter reduziert wurde. Eine Reduktion der Salpetersäure zu Ammoniak fand nicht statt.

Auch sollten fortlaufende Untersuchungen darüber ausgeführt werden, wie in den einzelnen Zeitabschnitten die Denitrifikation vor sich geht. Hierzu sollte die kolorimetrische Nitratbestimmung von Sprengel¹⁾ verwendet werden, weil diese Methode ein sehr schnelles und ausgedehntes Arbeiten gestattet. Nach vielen Versuchen mußte diese Absicht aber aufgegeben werden, weil die Schwefelverbindungen scheinbar einen Einfluß auf den Farbstoff ausübten, so daß die Methode in diesem Falle gänzlich unbrauchbar war. Es traten nämlich bei zwei Nährlösungen mit gleichem Nitratgehalt mit und ohne schwefelhaltige Verbindungen derartige Nuancen in der Farbe auf, daß ein Arbeiten mit dieser Methode gänzlich ausgeschlossen war. — Darauf wurde dann auch hier quantitativ das Nitrat mit Hilfe der alkalischen Reduktionsmethode bestimmt, und zwar wurde dieser Versuch in der Weise angesetzt, daß mehrere Kölbchen mit der gewöhnlichen Nährlösung mit gleichen Bakterienmengen beimpft wurden, und daß ungefähr alle zwei bis drei Tage ein Kölbchen auf Nitratverbrauch untersucht wurde, bis der Versuch beendet war.

Tage	Nitratverbrauch in mg pro 100 ccm Nährlösung
0	—
2	— 1,1 mg
5	— 2,2 mg
8	— 9,8 mg
13	— 22,8 mg

Die Beschleunigung der Nitratzersetzung am Schluß des Versuches kann man vielleicht so deuten, daß vom 5. Tage ab der in jedem Gefäß in Spuren vorhandene Sauerstoff verbraucht ist, und daß deshalb von diesem Tage ab erst ein ungehindertes Wachstum der Bakterien eintritt.

Zum Schluß wurde auch in dieser Arbeit wie in den bisher erschienenen Veröffentlichungen über Thiosulfatbakterien untersucht, inwieweit für diese Bakterien ein Ersatz der Energiequelle stattfinden kann. Hierbei wurde nicht nur untersucht, welche Schwefelverbindungen als Energiequelle für diese Bakterienart dienen können, weil eben das Thiosulfat nur sehr selten

¹⁾ Zeitschr. f. anal. Chem. Bd. 52. p. 137.

in der Natur vorkommt und somit diese Bakterien wohl fast immer auf ein Gemisch von Schwefelverbindungen als Energiematerial angewiesen sind. Es sollte hier außerdem noch untersucht werden, ob nicht vielleicht ganz anders geartete Substanzen als Energiequellen dienen können. Vor allen Dingen kamen Salze von Selen und Tellur in Frage, von denen nachgewiesen ist, daß sie von anderen Schwefelbakterien als Energiequelle verwendet werden können. Die Versuche wurden derart angesetzt, daß die gewöhnliche Nährlösung verwendet wurde, in der das Thiosulfat durch 0,5 Proz. und 0,1 Proz. Na_2SeO_3 und Na_2TeO_3 ersetzt war. Die Kulturen wurden sowohl mit Rohkulturen, wie auch mit Reinkulturen beimpft. Es stellte sich aber niemals bei Verwendung dieser Energiematerialien ein Wachstum ein. Auch Zellulose, Ammoniumsulfat wurden als Energiematerial benutzt. Aber auch hier erfolgte niemals ein Wachstum.

In später zu beschreibenden Erdversuchen wurde auch noch Ferrosulfat, Mangansulfat als Energiequellen verwendet, weil doch gerade Eisen und Mangan in dem Stoffwechsel gewisser Bakterien eine wichtige Rolle spielen, und weil gerade diese Elemente leicht oxydierbar sind. Aber auch in diesen Versuchen ließ sich nachweisen, daß durch diese Substanzen das Thiosulfat nicht zu ersetzen war, daß also die vorliegenden Thiosulfatbakterien einzig und allein auf Schwefelverbindungen als Energiequelle für ihre Umsetzungen angewiesen sind.

Wie schon einmal hervorgehoben war, wurden alle diese Untersuchungen mit Rohkulturen angestellt. Auf den ersten Blick wird es sonderbar erscheinen, daß energetische Umsetzungen mit Rohkulturen untersucht wurden. Aber da ja niemals ein Wachstum eintrat, wurde eindeutig bestimmt, daß das Thiosulfat als Energiematerial für diese Bakterien nicht zu ersetzen war. Im Anschluß hieran sollten alle Versuche mit Reinkulturen nachgeprüft werden, da es ja gelungen war, in einer Wasserstoffatmosphäre in Reagenzröhrchen Reinkulturen zu erhalten. Alle Versuche wurden also neu angesetzt und von der Luft durch steriles Paraffin abgeschlossen, indem die Flüssigkeitsoberfläche mit einer ca. 3 cm dicken Paraffinschicht versehen wurde. Nach drei Wochen war in keiner Kultur ein Wachstum erfolgt. Es wurde nun angenommen, daß vielleicht der Luftzutritt doch noch zu groß gewesen war. Alle Versuche wurden daher erneut angesetzt und durch Überleiten von Wasserstoff von der Luft abgeschlossen. Auch hier war nach 3—4 Wochen ein Wachstum nirgends zu beobachten. Dieser Versuch wurde noch einmal wiederholt, aber auch dann wurde trotz reichlicher Überimpfung kein Wachstum erzielt. Zum Schluß wurden dann die Versuche in Gefäßen angesetzt, von denen durch den Burri-Wright'schen Verschuß aller Sauerstoff abgehalten war. Aber auch hier war nach fünf Wochen nicht das geringste Wachstum zu beobachten.

Nach all diesen fehlgeschlagenen Versuchen mußte es leider aufgegeben werden, in Reinkulturen alle Untersuchungen nachzuprüfen. Woran es liegt, daß in den Versuchen mit größeren Mengen von Nährflüssigkeit niemals ein Wachstum der Reinkulturen eintrat, blieb vollkommen unaufgeklärt.

So kann denn nur noch einmal darauf hingewiesen werden, daß die benutzten Rohkulturen durch dauerndes Überimpfen fast rein vorlagen, so daß man mit großer Wahrscheinlichkeit annehmen kann, daß die mit Rohkulturen erhaltenen Resultate innerhalb enger Grenzen den wirklichen Umsetzungen der autotrophen, anaeroben denitrifizierenden Thiosulfatbakterien von Lieske entsprechen.

III.

In einem weiteren Teile dieser Arbeit sollte nun untersucht werden, in welchem Maße die denitrifizierenden Thiosulfatbakterien teilhaben an den Nitratumsetzungen in der Natur. Hierzu wurden Versuche in Erde, Kompost-erde, Torf usw. angesetzt, da ja Koch und Pettit¹⁾ gezeigt hatten, daß die Umsetzungen der Bakterien in Nährlösungen ganz andere sind, als z. B. in Erde. Ferner sollte die Frage beantwortet werden, ob auch diese ganz spezifische Bakterienart dieselben Eigenschaften im allgemeinen Verhalten zeigt wie die gewöhnlichen denitrifizierenden Bakterien. Zugleich konnten dann die Ergebnisse dieser Untersuchungen als neue Stützen früherer Erfahrungen dienen.

Die Nitratbestimmungen wurden nach der hier in unserem Institut gebräuchlichen alkalischen Reduktionsmethode ausgeführt. Es wurde stets auf die Erfahrung geachtet, daß diese Methode etwas ungenau wird, wenn die Nitratmenge pro Versuch zu klein oder zu groß wird. Die Vorlage war daher nie größer als 20—25 ccm $\frac{1}{10}$ n. H_2SO_4 ²⁾. Auf diese Weise wurden dann auch stets sehr gut übereinstimmende Werte bei den Parallelbestimmungen erzielt.

Der Thiosulfatgehalt wurde stets durch Titration mit $\frac{1}{100}$ n. Jodlösung in bekannter Weise ermittelt. Zu allen Versuchen wurde natürlich möglichst gleichmäßige Erde usw. verwendet. Außerdem wurde ständig darauf geachtet, daß der Wassergehalt der Erde usw. stets gleichmäßig blieb, indem das Gewicht der Gefäße durch Zusatz von destilliertem Wasser auf gleicher Höhe erhalten wurde.

Kapitel I.

Verhältnis anderer denitrifizierender Bakterien zu Thiosulfat und Nachweis und Verlauf von Nitratzersetzung im Boden durch Thiosulfat als Energiematerial.

Zunächst mußte erst das Verhältnis anderer denitrifizierender Bakterien zum Thiosulfat festgestellt werden, um später klare und eindeutige Versuchsergebnisse zu erhalten.

Die gewöhnliche Nährlösung für autotrophe, denitrifizierende Thiosulfatbakterien wurde mit verschiedenen Reinkulturen gewöhnlicher denitrifizierender Bakterien geimpft. Es trat in keinem Falle ein Wachstum ein. Füge man aber dieser Nährlösung eine organische Substanz als Energiematerial zu — z. B. Zitronensäure, — so erfolgte stets Wachstum, selbst in Nährlösungen, die mit 4 Proz. Thiosulfat versetzt waren. Ob hierbei von den Bakterien neben der organischen Substanz auch das Thiosulfat angegriffen war, war leider nicht zu entscheiden, da ja stets durch die auftretende Kohlensäure Thiosulfat zersetzt wurde, wie im Anfang dieser Arbeit gezeigt war. Wahrscheinlich ist es ja nicht, daß das Thiosulfat auch von anderen denitrifizierenden Bakterien angegriffen wird, sonst wäre doch in der gewöhnlichen, am Anfang dieser Arbeit erwähnten Thiosulfat-Nährlösung wenigstens ein geringes Wachstum erfolgt. Somit war anzunehmen, daß, wenn im Boden durch Thiosulfatzusatz eine Nitratabnahme erfolgt, dieser Nitratverbrauch auf autotrophe denitrifizierende Thiosulfatbakterien zurückzuführen war.

Um eine Nitratabnahme in Erde mit Thiosulfat als Energiematerial nachzuweisen, wurden folgende Versuche angesetzt:

1. 2 kg Erde wurden mit 1 Proz. Thiosulfat versetzt, außerdem wurde 0,5 Proz. Kaliumnitrat als Lösung quantitativ zugesetzt.

¹⁾ Koch u. Pettit, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 26. p. 335.

²⁾ Seydel, S. u. Wichers, L., Zeitschr. f. angew. Chem. 1911. p. 2046.

2. 2 kg Erde wurden mit 0,5 Proz. Kaliumnitrat quantitativ versetzt. Dieser Versuch sollte ergeben, wie sich größere Nitratmengen in einem Boden von etwa 18 Proz. Feuchtigkeit verhalten, ohne daß irgendein Energiematerial zugesetzt wurde.

3. 2 kg Erde wurden unbehandelt angesetzt, um die Nitratzunahme des verwendeten Bodens in einer bestimmten Zeit anzugeben.

Die benutzte Erde stammte vom hiesigen Versuchsfeld und war ein milder Lehm Boden. Die Feuchtigkeit betrug ungefähr 18 Proz in allen Versuchen.

Nach etwa 5 Wochen wurden diese Versuche abgebrochen. Es ergab sich, daß in dem Versuch mit 1 Proz. Thiosulfatzusatz eine Nitrat-Abnahme von 5,8 mg Nitrat-N pro 100 g trockenem Boden erfolgt war. In dem Versuche, der nur mit 0,5 Proz. Kaliumnitrat versetzt war, fand sich die gleiche Menge Nitrat wieder vor. Der 3. Versuch ergab schließlich eine Zunahme von 0,2 mg Nitratstickstoff pro 100 g trockenem Boden. (Vgl. hierfür am Ende der Arbeit Tabelle 1, Versuch 1, 2 und 3.) Am klarsten erkennt man die Resultate aus der nachfolgenden Tabelle:

No.	H ₂ O %	Thiosulfat in %	Nitratstickstoff pro 100 g trockener Erde in mg N		
			am Anfang	Ende	±
1.	18,4	—	1,1	1,3	+ 0,2
2.	18,4	—	89,9	86,8	— 0,1
3.	18,4	1,0	86,9	81,1	— 5,8

Somit ergibt sich also in Wirklichkeit eine Nitrat-Abnahme von $5,8 + 0,2 = 6,0$ mg Nitratstickstoff pro 100 g trockenem Boden. Hierdurch war also wirklich eine Nitratzersetzung im Boden durch Thiosulfat als Energiequelle festgestellt.

In gleicher Weise wurde zur Kontrolle eine zweite Versuchsreihe angesetzt. Hier ergab sich nach 6 Wochen eine Abnahme von 4 mg Nitratstickstoff, nach 8 Wochen eine Abnahme von 11,8 mg Nitratstickstoff pro 100 g trockener Erde. Daß diese Werte etwas geringer sind als die anfangs aufgeführten, erklärt sich daraus, daß hier nur 0,5 Proz Thiosulfat zugesetzt war. Rechnet man sie auf den gleichen Thiosulfatgehalt um, so erhält man eine Nitrat-Abnahme von 8,2 mg bzw. 23,9 mg Nitratstickstoff. (Vgl. Tabelle 1, Versuch 4, 5 und 6.)

Es war also durch verschiedene, stets die gleichen Resultate ergebende Parallelversuche ganz sicher festgestellt, daß auch im Boden durch Thiosulfatbakterien Nitratzersetzungen stattfinden können. Allerdings sind diese Umsetzungen im Verhältnis zu anderen denitrifizierenden Bakterien mit organischer Energiequelle sehr geringe, in 8 Wochen rund 12 mg Nitratstickstoff.

In ganz gleicher Weise wurden dieselben Versuche mit Komposterde angesetzt. Und auch hier ergaben sich die gleichen Resultate, wie aus der folgenden Tabelle klar ersichtlich ist.

No.	H ₂ O %	Thiosulfatgehalt in % des feuchten Bodens	Nitratstickstoff in mg pro 100 g trocknem Boden		
			Anfang	Ende	±
1.	26,4	—	7,3	13,4	+ 6,1
2.	26,4	—	102,4	108,6	+ 6,2
3.	26,4	1,0	102,4	81,4	— 21,0

Die Versuchsdauer war auch hier 5 Wochen, also die gleiche Zeit wie bei den Erdversuchen.

Gewöhnliche Komposterde zeigt in dieser Zeit eine Zunahme von etwa 6 mg Nitratstickstoff pro 100 g trockener Erde, ganz gleich, ob im Anfange 7 oder 100 mg Nitratstickstoff in 100 g trockenem Boden vorhanden waren. Aus dem Vorrat an organischer Substanz in der Komposterde erfolgt also keine äußerlich an Nitratverlusten wahrnehmbare Nitratersetzung. So ist denn der Nitratverbrauch von 21,0 mg Nitratstickstoff, der in Wirklichkeit sogar nach Versuch 1 $21 + 6,1 = 27,1$ mg groß ist, lediglich durch Thiosulfatbakterien erfolgt.

Also auch hier kann, wie in gewöhnlicher Ackererde, die Tatsache konstatiert werden, daß in der Komposterde beträchtliche Nitratersetzungen vor sich gehen, bei denen Thiosulfat als Energiematerial verwendet wird.

Auch für Buchenwaldboden und Torf wurden die gleichen Versuche angesetzt.

Der Buchenwaldbodenversuch bei gewöhnlichem Wassergehalt wurde leider erst zu spät untersucht, so daß schon wieder eine Nitratzunahme erfolgt war. Dies ist jedoch eine Tatsache, die auch in Erde und Kompost bei längerem Stehen in ganz gleicher Weise eintritt. Sie soll im Zusammenhang weiter unten behandelt werden. Ein Versuch mit Buchenwaldboden mit höherem Feuchtigkeitsgehalt hatte dagegen einen wesentlichen Nitratverbrauch ergeben. (Vgl. Tabelle II, Versuch 7 und 8.) Aus allen Ergebnissen ist der Schluß zu ziehen, daß auch im Buchenwaldboden eine Nitratersetzung durch Thiosulfat als Energiematerial erfolgt.

Auch für den Torf ergab sich das gleiche Resultat. Enthielten 100 g Trockensubstanz 330 mg Nitratstickstoff — der hohe Nitratgehalt erklärt sich durch den enormen Feuchtigkeitsgehalt des Torfes — so zeigte sich nach 14 Wochen ein Nitratverbrauch von 216 mg Nitratstickstoff (vgl. hierzu Tabelle 2, Versuch 9).

Somit ergibt sich das interessante Resultat, daß in allen untersuchten Böden Nitratersetzungen mit Hilfe von Thiosulfat als Energiematerial vor sich gehen. Selbstverständlich zeigten quantitative Thiosulfatbestimmungen einen starken Thiosulfatverbrauch an. Hierdurch erhielt natürlich die im Anfang gemachte Angabe, daß die von Lieske näher bearbeitete, autotrophe denitrifizierende Thiosulfatbakterienart auch in allen vorliegenden Bodenarten vorkommt, eine wesentliche Stütze.

Wenn die Umsetzungen dieser Bakterien auch lange nicht so groß sind wie die der gewöhnlichen heterotrophen Denitrifikationsbakterien, so steigt doch die allgemeine Bedeutung der Thiosulfatbakterien durch ihre außerordentliche Verbreitung. Nach den vorliegenden Tatsachen ist doch die Annahme berechtigt, daß sie wohl in jeder Bodenart vorkommen werden.

Über den weiteren Verlauf der Denitrifikation im Ackerboden ist noch zu bemerken, daß sie allmählich steigt bis zum Verbrauch des Energiematerials und daß dann plötzlich eine äußerst lebhafte Nitrifikation einsetzt. Wie schon mehrfach erwähnt wurde, läßt es sich nicht genau feststellen, wann das Energiematerial verbraucht ist. Die folgenden Tabellen machen es aber wahrscheinlich, daß die Nitratumsetzungen in der eben erwähnten Weise vor sich gehen. Der folgende Versuch mag dies genauer zeigen:

Nitratersetzung pro 1,0% $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ u. 100 g Trockensubstanz				
nach	5 Wochen	.	.	— 6,0 mg Nitrat-N
„	6	„	.	— 8,2 „ „
„	8	„	.	— 23,9 „ „
„	10	„	.	— 5,2 „ „
„	13	„	.	+ 1,3 „ „
27*				

Diese Erscheinung tritt sowohl im Ackerboden, Kompost, wie auch im Buchenwaldboden auf. Daß die Nitratbildung eintritt, wenn das Energiematerial verbraucht ist, geht aus folgendem Versuch hervor, der nach 13 Wochen abgebrochen wurde:

0,5 % Thiosulfat	+	2,9 mg Nitrat-N
1,0 % „	+	1,3 „ „
2,0 % „	—	10,3 „ „

In diesen Versuchen wurde das in Versuchen ohne Thiosulfatzusatz gefundene Nitrat natürlich abgezogen, so daß also wirklich eine Nitratneubildung vorliegt, die das anfangs vorhanden gewesene Nitrat übertrifft.

Aus diesen Versuchen geht also mit großer Deutlichkeit hervor, bis zu welchem Betrage die Nitratzersetzung steigen kann, und mit welcher Intensität das Nitrat zurück- und neugebildet wird. In später ausführlicher zu besprechenden Versuchen, über deren Stickstoffumsatz genaue Gesamtanalysen angestellt wurden, tritt diese Tatsache besonders hervor, indem die durch Denitrifikation veranlaßte Abnahme des Gesamtstickstoffs größer ist als die am Schluß gefundene Nitratzersetzung. Diese Tatsache ist eben auch so zu erklären, daß die wirklich vorhanden gewesene Nitratzersetzung nach Verbrauch des Energiematerials durch die dann auftretende lebhaftere Nitratbildung verdeckt wird. Diese schnelle Nitrifikation erklärt sich einmal daraus, daß das meiste Nitrat zu Eiweiß in Bakterien umgesetzt ist, woraus das Nitrat sehr leicht zurückgebildet werden kann. Daneben mußte aber auch eine sehr lebhaftere Nitratneubildung stattfinden. Es fiel auf, daß sich am Schluß der Versuche der Boden stets in einer ganz ausgezeichneten Gare befand, so daß durch die gute physikalische Beschaffenheit die Beschleunigung der Nitrifikation im Boden teilweise zu erklären ist. Ob bei der Schaffung der Gare vielleicht das entstehende Natriumsulfat mitgewirkt hat, wurde nicht näher untersucht. Jedenfalls ist diese außerordentlich schnelle Nitrifikation sehr bemerkenswert.

Kapitel II.

Weitere Untersuchungen über Bakterienzahl und Rassen in den verschiedenen Böden.

Die im vorigen Kapitel mitgeteilten Zahlen bestätigen zugleich aber auch die im Anfang mitgeteilte Erfahrung, daß die Zahl der in den verschiedenen Böden vorkommenden Thiosulfatbakterien sehr verschieden ist oder daß man je nach der Art des Bodens auch gewisse Rassen in dieser Bakterienart unterscheiden kann.

Betrachtet man nämlich den in gleicher Zeit — etwa 5 Wochen — erfolgten Umsatz von Nitrat in Erde und Kompost, so erhält man folgende Zahlen:

Material	Nitrat im Anfang	Verbrauchtes Nitrat	Nitratverbrauch in %
Erde	86,6 mg	6,0 mg	6,9 %
Kompost	102,4 „	27,5 „	26,9 %

Es zeigt sich also der beträchtliche Unterschied von 7 Proz. und 27 Proz. im Nitratumsatz. Da der Verbrauch des Thiosulfates nicht genau zu ermitteln ist, wie schon mehrfach erwähnt wurde, und dadurch das Verhältnis des Thiosulfatverbrauches zum Nitratverbrauch vollkommen unbekannt bleibt, so kann man leider nicht eindeutig entscheiden, wieweit bei diesem Unter-

schied die Zahl der Bakterien oder die verschiedene Umsetzungsfähigkeit der einzelnen Rassen eine Rolle spielt. Die Umsetzungsfähigkeit zeigte in diesen Versuchen auch sehr bedeutende Unterschiede. Das Thiosulfat war in beiden Fällen fast gänzlich verschwunden; es zeigten sich jedenfalls nur ganz geringe Spuren, die vollkommen vernachlässigt werden können. Nimmt man nun trotz der Mängel der Thiosulfatbestimmungen das Thiosulfat als vollkommen von Bakterien verbraucht an, und gibt man die Nitratzersetzung an, die von 1 g Thiosulfat pro 100 g trockener Erde bewirkt wird, so ergeben sich die folgenden Werte:

Erde	4,9 mg Nitrat-N
Kompost	20,3 „ „

Diese Zahlen sollen nur ganz ungefähr die wirklichen Werte darstellen, weil eben die wahren Umsetzungen des Energiematerials nicht zu ermitteln sind. Sie zeigen aber doch, welche beträchtlichen Schwankungen hier vorkommen in den einzelnen Rassen. Vor allen Dingen ist wichtig, daß, sowohl in der Nährlösung, wie im Boden die gleichen Verhältnisse in der Umsetzungsfähigkeit der einzelnen Rassen auftreten. Und auch die genauen, in Lösung erhaltenen Zahlen ergeben ungefähr die gleichen Werte, denn die im zweiten Teil erwähnten Versuche in Nährlösung hatten ergeben:

mit Erde beimpft	— 7,6 mg Nitrat-N
mit Torf beimpft	— 32,4 „ „

Die Werte stimmen also außerordentlich gut überein mit den für Erde und Kompost ermittelten.

Somit wäre auch die schon im Anfang gebrachte Erfahrung bestätigt, daß man vor allen Dingen zwischen einer Rasse in Erde einerseits und einer Rasse in Kompost, Torf, Buchenwaldboden andererseits unterscheiden muß, daß die Unterschiede zwischen Kompost im Vergleich mit Torf usw. selbst nicht so groß sind.

Allein aber aus diesen im Boden angestellten Versuchen auf Rassen in der Bakterienart zu schließen, würde nicht angehen, weil eben die Ernährungsbedingungen in den Böden viel zu verschieden sind, um genaue Vergleiche ziehen zu können. Die Hauptstütze für diese Annahme sind jedenfalls die Versuche, die mit den Thiosulfatbakterien aus verschiedenen Böden in Nährlösung angestellt wurden und die in Teil 2, Kap. 5 eingehend beschrieben wurden. Hervorgehoben muß aber werden, daß die Versuche im Boden niemals auch nur in der geringsten Weise im Widerspruch stehen mit den früheren Erfahrungen, daß vielmehr die letzten Versuche in ausgezeichneter Weise die Untersuchungen in Nährlösung stützen und ergänzen und somit die Annahme von Rassen innerhalb der autotrophen denitrifizierenden Bakterienart um ein Bedeutendes sicherer stellen und rechtfertigen.

Kapitel III.

Nitratzersetzung bei Änderung des Thiosulfat- und Nitratgehaltes im Boden.

Sodann wurde untersucht, wie sich die Umsetzungen dieser Bakterien gestalten, wenn einmal die zugesetzte Thiosulfatmenge, dann die Nitratmenge und zum Schluß beide Faktoren zusammen gesteigert wurden. Besonders wäre es dann interessant, die Umsetzungen bei verschiedenem Verhältnis von Thiosulfat und Nitrat in den verschiedenen Konzentrationen zu studieren. Diese Absicht konnte aber leider nicht ausgeführt werden, weil die Fehlerquellen in der Bestimmung des verbrauchten Thiosulfates doch

zu große waren. Einmal trat Zersetzung durch die Kohlensäure auf, wie schon mehrfach erwähnt wurde. Wie sollte man diese Zersetzung feststellen, ohne zugleich eine Nitratzerersetzung durch Bakterien auf Kosten des Thiosulfates beachten zu müssen! Würde man mit Reinkulturen in steriler Erde arbeiten, so würde kaum eine Zersetzung durch CO_2 eintreten, da hier ja nicht die natürliche CO_2 -Bildung vorhanden war. Sodann wurde Thiosulfat vom Erdboden adsorbiert. Und zwar fanden sich für Erdboden folgende Werte:

Zugesetztes Thiosulfat	Wiedergefundenes Thiosulfat
0,5%	0,16%
1,0%	0,23%
2,0%	0,78%
4,0%	1,54%

So blieb einmal die Frage offen, ob die Bakterien von dem adsorbierten Thiosulfat auch etwas verbraucht hatten oder nicht. Daß dieser Einfluß der Adsorption wirklich zu befürchten war, geht daraus hervor, daß man ganz regelmäßig bei Abschluß eines Versuches eine gewisse Menge von Thiosulfat fand, die in allen Versuchen fast gleich war, ganz gleichgültig, ob der Versuch nun vielleicht 5 oder 10 Wochen gegangen war, ob 0,5 Proz. oder 2 Proz. Kaliumnitrat verwendet war. Dieser Wert stieg nur ganz minimal bei steigendem Thiosulfatgehalt. Er blieb allerdings aber immer so klein, daß er 0,02 Proz. Thiosulfat nur in einem einzigen Falle erreichte. Es ist anzunehmen, daß dieser kleine Betrag auf Rechnung des sich lösenden adsorbierten Thiosulfats zu setzen war. So mußte denn auf die Feststellung der genauen Thiosulfatumsetzungen verzichtet werden.

Nun zu der Besprechung der Nitratumsetzungen! Es ließ sich feststellen, daß mit steigendem Thiosulfatgehalt bei gleicher Nitratmenge sich auch die Nitratumsetzungen steigerten (vgl. Tabelle 4).

Nitratstickstoffverbrauch in mg N pro 100 g trockner Erde.

1 % Thiosulfat	— 5,8 mg Nitrat-N
2 % „	— 8,5 „ „
3 % „	— 10,2 „ „
4 % „	— 13,2 „ „

Allerdings steigt für die höheren Konzentrationen von Thiosulfat die umgesetzte Nitratmenge nur verhältnismäßig wenig, so daß man annehmen kann, daß sich auch hier die Erfahrung v. Carons¹⁾ bestätigt, daß bei steigenden Mengen von Energiematerial die Umsetzungen — bezogen auf eine Einheitsmenge von Energiematerial — immer kleiner und ungünstiger werden. v. Caron fand nämlich, daß „die Bakterien für eine gleiche Leistung hinsichtlich der Nitratumsetzung nicht immer dieselbe Menge an Energiematerial verwenden. Sie gehen um so verschwenderischer mit der Kohlenstoffquelle um, je mehr ihnen davon zur Verfügung steht.“ Nimmt man an, daß alles Thiosulfat in diesen Versuchen verbraucht gewesen wäre, so würden sich für 1 g Thiosulfat in 100 g trockener Erde folgende Nitratzeretzungen finden (vgl. Tabelle 4):

1 % Thiosulfat	5,8 mg Nitrat-N
2 % „	4,2 „ „
3 % „	3,9 „ „
4 % „	3,3 „ „

Bei gleichbleibendem, 1 proz. Thiosulfatgehalt, aber steigendem Nitratgehalt, findet sich folgender Nitratverbrauch pro 100 g trockenem Boden (vgl. Tabelle 4)

¹⁾ v. Caron, Untersuchungen über die Physiologie denitrifizierender Bakterien. (Diss.) Göttingen 1912.

0,5 %	KNO ₃	5,8 mg	Nitrat-N
1,0 %	KNO ₃	5,0	„
2,0 %	KNO ₃	25,5	„

Es zeigt sich also auch hier ein Steigen der Nitratzersetzung mit steigendem Nitratgehalt und gleicher Thiosulfatgabe.

So mußte man denn auch bei steigendem Thiosulfatgehalt und steigendem Nitratgehalt eine Steigerung der Nitratzersetzung erwarten und die war denn auch aus dem Zahlenmaterial zu konstatieren. Es zeigten sich folgende Nitratstickstoffverluste pro 100 g trockenem Boden (vgl. Tabelle 4):

1 %	Na ₂ S ₂ O ₃	0,5 %	KNO ₃	5,8 mg	Nitrat-N
2 %	Na ₂ S ₂ O ₃	1,0 %	KNO ₃	9,7	„
3 %	Na ₂ S ₂ O ₃	2,0 %	KNO ₃	42,0	„

Eigenartig ist es auf jeden Fall, daß bei derartigen Konzentrationen wie 3 Proz. Thiosulfat mit 2 Proz. Nitrat noch ein Wachstum der Bakterien eintritt. Allerdings multiplizieren sich ja die Fehler — sie hatten sich ungefähr vervierfacht — da etwa 80 mg Nitrat-N vorlagen und zu jeder Bestimmung nur 20 mg Nitrat-N benutzt wurden — weil mit Rücksicht auf die große Nitratmenge nicht wie gewöhnlich der ganze Nitratgehalt von 100 g trockenem Boden auf einmal bestimmt werden konnte; aber die zersetzten Nitratmengen sind derartig groß, daß sie vollkommen außerhalb dieser Grenzen liegen. Es entsprechen also die hier gefundenen Verhältnisse vollkommen den Erfahrungen, wie man sie bei anderen Bakterien gemacht hat¹⁾.

Kapitel IV.

Einfluß des Wassergehaltes auf die Nitratzersetzung.

In einer weiteren Versuchsreihe wurde nun der Einfluß des Wassergehaltes auf die Nitratumsetzungen der Thiosulfatbakterien untersucht. Hiermit sollte untersucht werden, ob diese denitrifizierenden Bakterien mit ihrem ganz eigenartigen Stoffwechsel dieselben allgemeinen Eigenschaften zeigen, wie sie gewöhnlichen denitrifizierenden Formen, wie z. B. *Bacterium fluorescens*, zukommen.

Als die ersten Untersuchungen über die Nitratzersetzung der denitrifizierenden Bakterien bekannt wurden, da glaubte man einen Faktor von ungeahnter Bedeutung für die Landwirtschaft gefunden zu haben, welcher der Landwirtschaft ungemessenen pekuniären Schaden zufügen könnte. Die Frage wurde auf das eingehendste ventiliert, und die Meinungen der Forscher variierten in der ausgedehntesten Weise. Die einen stritten der Denitrifikation jegliche Bedeutung für das Verschwinden des Salpeters im Boden ab, die anderen sahen in ihr die allergrößte Gefahr für den so wichtigen Pflanzennährstoff. Einen sehr vollständigen Überblick über diese Streitfragen gibt die Arbeit von v. Caron²⁾ aus dem hiesigen Institut. Das Problem wurde endlich gelöst durch eine Arbeit von Koch und Pettit³⁾, ebenfalls aus dem hiesigen Institut. In dieser Arbeit wurde auf das genaueste festgestellt, daß der Denitrifikationsprozeß im Boden im allgemeinen ganz anders verläuft als in Nährflüssigkeit. Während in der Nährlösung das Nitrat stets zu frei entweichendem Stickstoff reduziert wird, wird im Erdboden vom normalen Feuch-

¹⁾ v. Caron, Untersuchungen über die Physiologie denitrifizierender Bakterien. (Diss.) Göttingen.

²⁾ v. Caron, Centralbl. f. Bakt. Abt. II, Bd. 33, p. 62.

³⁾ Koch u. Pettit, Centralbl. f. Bakt. Abt. II, Bd. 26, p. 335.

tigkeitsgehalt das Nitrat zum allergrößten Teile zu Eiweißstickstoff umgesetzt. Im Erdboden geht der Nitratstickstoff also seiner Hauptmenge nach gar nicht verloren, sondern bleibt der Pflanzenvegetation erhalten. Steigt der Wassergehalt, so tritt auch im Boden eine vollkommene Änderung der Nitratzerstörung ein; dann wird auch im Boden das Nitrat zum größten Teile zu freiem Stickstoff zersetzt, so daß große Stickstoffverluste eintreten. Die Arbeit zeigt, daß also die bisherige Art der Untersuchung der Bakterientätigkeit in Nährlösung für die Beurteilung der Umsetzungen im Boden überhaupt kaum in Frage kommt, daß eben nur Untersuchungen im Boden selbst uns Aufklärung schaffen können über die Umsetzungen der einzelnen Bakterienarten im Boden und über die Wichtigkeit dieser Prozesse für die Landwirtschaft.

Die eben angeführten Beobachtungen waren teils an Rohkulturen, teils auch mit Reinkulturen gemacht. Ganz interessant mußte nun die Beantwortung der Frage sein, ob sich die gleichen Resultate auch bei einer solch empfindlichen und in ihren ganzen Umsetzungen spezifischen Bakterienart ergeben würden, wie bei den vorliegenden Thiosulfatbakterien.

Es wurden also Erdversuche angesetzt, die mit Nitrat und Thiosulfat versetzt waren, bei 18 Proz. und 30—35 Proz. Wasser. Es wurden also zunächst keine Reinkulturen verwendet.

Der erste Versuch, der in dieser Hinsicht angestellt wurde, mißlang etwas, da wegen der Ferien der Wassergehalt zu niedrig wurde. Immerhin ließ sich schon hier ein bedeutender Unterschied in der Nitratzerstörung erkennen:

Wassergehalt in %	Nitratstickstoffverbrauch in mg pro 100 g trocken. Boden	Verlust an Gesamtstickstoff in mg pro 100 g trockenem Boden
18,0	— 11,8 mg	— 13,5 mg
30,0	— 17,7 mg	— 23,3 mg

Viel instruktiver sind die Resultate der nächsten Reihe in Erde, die in ganz gleicher Weise angesetzt wurde (vgl. Tabelle 3):

Wassergehalt in %	Nitratverbrauch in mg pro 100 g trockenem Boden	Gesamtstickstoffverluste in mg pro 100 g trockenem Boden
18,0	— 5,3 mg	— 23,4 mg
35,0	— 73,1 mg	— 80,7 mg

Aufs deutlichste sieht man hier den Unterschied in der Nitratzerstörung und in der Stickstoffentbindung. Allerdings kommt für den Wert für Nitratverbrauch bei 18 Proz. Wasser noch die Überlegung hinzu, daß nach Verbrauch des Thiosulfates die durch die Denitrifikation verdeckte Nitratbildung lebhaft zum Ausdruck kommt, so daß der wirkliche Wert der Nitratzerstörung verschleiert wird. Auf diese Tatsache wurde aber schon am Anfang dieses Kapitels hingewiesen. Von Wichtigkeit ist ja aber vor allen Dingen nur der Unterschied in dem entwichenen Stickstoff, weil ja nur dieser allein die wirklichen Verluste für den Boden anzeigt. Der Rest des umgesetzten Nitratstickstoffes ist ja dem Boden als Eiweiß erhalten geblieben.

Ein gleicher Versuch wurde auch noch für höhere Konzentrationen von Thiosulfat ausgeführt. Zeigten die vorhergehenden Versuche einen Thiosulfatgehalt von 1 Proz., so wurde nun die Erde mit 2 Proz. Thiosulfat versetzt. Als Endergebnis ergab sich nach 13 Wochen:

18 % H ₂ O:	— 10,3 mg Nitrat-N pro 100 g tr. Boden
35 % H ₂ O:	— 67,1 „ „ „ 100 g „ „

Also auch hier in schlagender Weise das gleiche Verhalten!

Ein Reinkulturversuch, der in dieser Hinsicht angesetzt wurde und natürlich die gleichen Resultate ergab, soll hier nicht näher besprochen werden, da am Schluß des Versuches versäumt wurde, nachzuweisen, daß die Kultur wirklich rein geblieben war.

Die in Rohkultur erhaltenen Zahlen zeigen ja auch zur Genüge, daß die denitrifizierenden Thiosulfatbakterien genau wie die gewöhnlichen Denitrifikationsbakterien in äußerst charakteristischer Weise auf die physikalische Beschaffenheit des Bodens reagieren.

Auch die Umsetzungen der Thiosulfatbakterien in Kompost von verschiedenem Wassergehalt zeigen die gleichen Ergebnisse (vgl. Tabelle 3).

Wassergehalt in %	Nitratverbrauch in mg N pro 100 g trockn. Boden	Gesamtstickstoffverbrauch in mg pro 100 g trockn. Boden
23,0	+ 5,2 mg	— 20,0 mg
40,0	— 88,6 „	—
50,0	— 93,9 „	— 125,1 „

Die Versuche wurden nach 14 Wochen abgebrochen. Da der Kompost eine ganz andere Wasserkapazität hat, als gewöhnlicher Ackerboden, so liegt natürlich die Grenze des Wassergehaltes, der Stickstoffentbindung veranlaßt, dementsprechend höher.

Für Buchenwaldboden wurden ebenfalls die gleichen Untersuchungen angestellt.

Es ergaben sich für Buchenwaldboden (Tabelle 3):

64,2 % H ₂ O:	+ 46,6 mg Nitrat-N pro 100 g trockn. Boden
110,0 % H ₂ O:	— 181,2 „ „ „ 100 g „ „

Und hier wird die Erfahrung bestätigt, daß bei niedrigem Wassergehalt und Verbrauch des Energiematerials die Denitrifikation durch eine lebhaftere Nitratbildung verdeckt wird!

Somit dürfte für die Thiosulfatbakterien auf das nachdrücklichste nachgewiesen sein, daß sie in ganz gleicher Weise wie die gewöhnlichen Denitrifikationsbakterien mit ihren Nitratumsetzungen auf die physikalische Beschaffenheit des Bodens reagieren. Wenn aber also selbst diese ganz spezifischen Denitrifikationsbakterien die gleichen Eigenschaften zeigen wie die heterotrophen, so dürfte damit eine kräftige Stütze für die Ansicht erbracht sein, daß die in der Koch und Pettitschen Arbeit erhaltenen Resultate von allgemeinsten Bedeutung für alle Denitrifikationsprozesse in der Natur sind.

Kapitel V.

Nitratzersetzung bei Änderung der Energie-, Nitrat- und Karbonatquellen im Boden.

Zum Schluß dieser Untersuchungen wurden noch einige Versuche angestellt, die zeigen sollten, wie die verschiedenen salpetersauren Salze zur Denitrifikation von den Thiosulfatbakterien benutzt werden können. Leider gingen bei der Nitratbestimmung einige Versuche verloren, so daß nur Bestimmungen von Kaliumnitrat und Ammoniumnitrat vorliegen. Aber hierdurch ergab sich noch eine schöne Bestätigung früher erwähnter Tatsachen. Ammoniumnitrat führt dem Boden doch auch Ammoniakstickstoff zu, so daß neben der Denitrifikation durch Thiosulfatbakterien eine lebhaftere Nitrifikation verlaufen muß. Bei Besprechung der Thalauschen Arbeit ganz am Schluß dieser Untersuchung wird auch noch einmal erwähnt werden, daß durch diese

Nitrifikation wohl sicherlich die Denitrifikation vollständig verdeckt werden wird. Und dies Resultat wurde denn auch bei den Schlußnitratbestimmungen gefunden:

Bei Zusatz von

0,5 % KNO_3	— 6,0 mg Nitrat-N pro 100 g trockn. Boden
0,5 % NH_4NO_3	+ 8,7 „ „ „ 100 g „ „

Noch eine interessante Tatsache muß hier erwähnt werden. Neben Thiosulfat als Energiematerial, Nitrat als Sauerstoffquelle muß natürlich Karbonat eine Rolle als Kohlenstoffquelle spielen, da schon von *Lieske* und *Nathansohn* nachgewiesen war, daß die Umsetzungen dieser Bakterien durch organische Substanz nicht gefördert wird, daß diese Bakterien überhaupt nicht die Fähigkeit haben, zugeführte organische Substanz in ihren Umsetzungen zu verwenden. Somit waren diese Formen auf anorganische Kohlensäure als Kohlenstoffquelle angewiesen. Es wurde versucht, ob durch Zusatz von Natriumbikarbonat zu Erde, die mit Thiosulfat und Nitrat versetzt war, eine Steigerung des Nitratumsatzes zu erzielen war. Und diese trat tatsächlich ein. Die Nitratzersetzung in mg N pro 100 g trockenem Boden zeigt die folgende Zusammenstellung:

ohne NaHCO_3	— 6,0 mg Nitrat-N pro 100 g trockenem Boden
mit NaHCO_3	— 22,7 „ „ „ 100 g „ „

So zeigt sich deutlich, daß im Boden nicht genügend Karbonat vorhanden ist, um diesen Umsetzungen durch Thiosulfat ein Optimum zu schaffen.

Ein Zusatz von Karbonat würde sicherlich das gleiche Resultat ergeben haben, da ja im zweiten Teile dieser Arbeit an Kulturen in Nährlösung gezeigt war, daß die Bakterien als Kohlenstoffquelle gleich gut Bikarbonat wie auch Karbonat verwenden können. Mancher wird nun auf den ersten Blick annehmen, daß diese Steigerung der Umsetzungen durch Zusatz von Karbonat ja die vorhin im dritten Teil, Kapitel II aufgeführten Unterschiede in den einzelnen Rassen erklären würde. Dem steht aber entgegen, daß die Rassenunterschiede festgestellt worden sind in Nährlösungen mit ganz gleichem Nährstoffgehalt, wo also Unterschiede, die durch Nährstoffmangel bedingt worden wären, vollkommen ausgeschaltet waren.

Lieske erwähnt in seiner Arbeit, daß die Thiosulfatbakterien wohl alle Oxydationsstufen des Schwefels zu Sulfat oxydieren und zu ihren Umsetzungen als Energiequelle verwenden. Es wurde versucht, dies auch an Erdversuchen nachzuweisen. Als Energiequellen wurden benutzt Na_2S , Na_2SO_3 und Schwefel. Die Umsetzungen waren folgende (Tabelle 5):

0,5 % S	— 2,1 mg Nitrat-N pro 100 g trockenem Boden
0,5 % Na_2S	— 3,9 „ „ „ 100 g „ „
0,5 % Na_2SO_3	— 3,9 „ „ „ 100 g „ „
0,5 % $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	— 6,0 „ „ „ 100 g „ „

In allen Versuchen ist eine Abnahme des Nitrats zu konstatieren. Beim Schwefel ist sie allerdings so gering, daß man wohl keinen positiven Schluß daraus ziehen darf. Dies ist ja auch sehr erklärlich, da der Schwefel nur sehr wenig löslich ist. Immerhin macht es der Versuch sehr wahrscheinlich, daß auch der Schwefel wirklich eine Nitratzersetzung, die allerdings sehr klein ist, im Boden herbeiführen kann. Die anderen Versuche bestätigen aber zur Genüge die *Lieske* schen Annahmen. Wenn Thiosulfat die größte Nitratzersetzung ergeben hat, so beruht dies darauf, daß dieses Salz sehr leicht zersetzlich ist und sehr leicht in Sulfat überzuführen ist.

Ganz interessant war es nun zu berechnen, welche Energiemengen überhaupt frei werden können bei der Oxydation der verschiedenen vorhin genannten Schwefelverbindungen zu Sulfat, und mit diesen die gefundenen Nitratumsetzungen zu vergleichen. Berechnet man diese Werte auf entstehendes gasförmiges SO_3 , so findet man für ein Molekül folgende Werte:

H_2S	147,27	kg Kal.
S	91,90	„ „
SO_2	22,64	„ „
$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	18,50	„ „
für 1 Mol. S	9,25	„ „

Der hohe Wert von H_2S erklärt sich durch die gleichzeitig freiwerdende Verbrennungswärme des Wasserstoffes.

Es zeigt sich also, daß die Bakterienumsetzungen nicht im Einklang stehen mit der Energie, die bei den Umsetzungen frei werden kann. Diese Differenz wird sicherlich dadurch erklärt, daß eben diese verschiedenen Stoffe verschieden schwer angreifbar bzw. löslich sind, so daß sie den Bakterien teilweise nicht in der ausreichenden Menge zur Verfügung stehen. Schon Lieske hatte ja bei Untersuchungen in Nährlösung gefunden, daß die Umsetzungen mit Schwefel als Energiematerial mindestens zwei- bis dreimal so lange dauern als die Umsetzungen mit Thiosulfat. Welche anderen Faktoren hierbei sonst noch mitspielen können, läßt sich aus dieser kleinen Tabelle nicht entscheiden.

Hier sollte nun noch versucht werden, ob nicht andere oxydationsfähige Materialien, wie Mangan- und Ferrosalze, als Energiequellen für Thiosulfatbakterien dienen können, weil hier doch Formen vorlagen, die an anorganische Energiequellen angepaßt waren. Die Versuche wurden nun so angesetzt, daß man neben Thiosulfat und Nitrat dem Boden noch 0,2 Proz. Mangansulfat oder 0,1 Proz. Ferrosulfat zusetzte. Wirkten diese Substanzen wirklich als Energiequellen, dann mußte sich eine Steigerung des Nitratumsatzes durch den Zusatz dieser Salze ergeben:

Erde	Nitratverbrauch in mg N pro 100 g trockener Erde
+ Thiosulfat	— 5,7 mg
+ Thiosulfat }	— 5,6 mg
+ 0,2% MnSO_4 }	
+ Thiosulfat }	— 2,0 mg
+ 0,1% FeSO_4 }	

Wie aber Nitratbestimmungen nach fünf Wochen ergaben, hatte Mangansulfat gar keinen Einfluß ausgeübt, Eisensulfat hatte das Bakterienwachstum scheinbar geschädigt, es war nur sehr wenig Nitrat umgesetzt. So erschienen diese Thiosulfatbakterien als ganz spezifische, nur dem Schwefel in ihren Umsetzungen angepaßte Formen.

IV.

Kapitel 1.

Die Versuchsergebnisse der Thalauschen Arbeit.

Nachdem der größte Teil dieser Untersuchungen schon beendet war, fand sich eine Arbeit, die — bei anderer Deutung der Versuchsergebnisse — die hier gebrachten Resultate ausgezeichnet bestätigte und zugleich zeigte, daß diesen hier behandelten Bakterienformen in gewissen Fällen auch ein

praktisches Interesse zukommt. Es ist die Arbeit von Walter Thala u¹⁾: „Die Einwirkung von im Boden befindlichen Sulfiten, von Thiosulfat und Schwefel auf das Wachstum von Pflanzen.“

Angeregt durch die bekannte Schädigung, die freie schweflige Säure aus Rauch- und Röstgasen auf die Pflanzenvegetation ausübt, und durch die schädigende Wirkung von schwefliger Säure in Pflanzennährlösungen untersuchte der Verf. die Einwirkung verschiedener Sulfite auf die Pflanzen in Vegetationsversuchen in Erde, Hochmoortorf und Sandboden. Zu den Versuchen wurden glasierte Tongefäße mit eingelegten Siebböden benutzt, wie sie in agrikulturchemischen Instituten oft gebraucht werden; deren Vegetationsoberfläche betrug 386 qcm. Die Gefäße faßten durchschnittlich 8,8 kg an Lehm Boden, 8,5 kg an Sandboden, 1,1 kg an Torfboden.

Nach einer Grunddüngung von 4 g Thomasmehl und 2 g Kalisalz für jedes Gefäß wurde jedem Versuch noch eine Stickstoffdüngung von 0,3 g N gegeben, teils als Ammoniumsulfat allein, teils als Ammoniumsulfid allein, teils endlich als Ammoniumsulfat und Sulfid. Daneben wurde noch als Stickstoffdüngung Burkheiser Salz gegeben, welches 20,8 Proz. N, 37,64 Proz. SO_2 und 14,60 Proz. SO_3 enthält. Dieses Salz hat seinen Namen von dem Ingenieur Burkheiser. Es wird bei der Koksbereitung gewonnen, indem der Schwefel der Kohle in SO_2 verwandelt und dieses zur Neutralisation von NH_3 verwendet wird.

Die genaue Versuchsanordnung war folgendermaßen:

1. Grunddüngung 4 g Thomasmehl, 2 g Kalisalz (40%),
2. „ + 0,3 g N (0,745 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ + 0,789 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_3$),
3. „ + 0,3 g N (0,070 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ + 1,578 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_3$),
4. „ + 0,3 g N (1,41 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ + — $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_3$),
5. „ + 0,15 g N (0,705 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ + — $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_3$),
6. „ + 0,3 g N (1,44 g Burkheiser Salz),
7. „ + 0,15 g N (0,72 g Burkheiser Salz),
8. „ + 0,57 g N (3,156 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_3$),
9. „ + 0,3 g N (1,41 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ + 1,1 g Ca SO_3),
10. „ + 0,3 g N (1,41 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ + 2,2 g Ca SO_3),
11. „ + 0,3 g N (1,41 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ + 3,3 g Ca SO_3).

Jede Versuchsreihe führte fünf Parallelgefäße. Zunächst wurden im Jahre 1911 diese 11 Versuchsreihen ausgeführt, im Jahre 1912 wurden die Ergebnisse vom vorhergehenden Jahre nachgeprüft. Als Versuchspflanzen wurde für Lehm Boden, Torf und Sand Hafer benutzt; für Lehm Boden außerdem noch Senf.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen seien hier wörtlich nach den Angaben des Verf. wiedergegeben:

Kurze Betrachtung über die Ergebnisse der Kulturversuche im Jahre 1911.

a) Lehm Boden: Es ist weder bei Senf- noch bei Haferkulturen in irgend-einem Falle eine Schädigung im Wachstum oder im Ernteertrag der Trockensubstanz durch Ammoniumsulfid oder Burkheiser Salz zu konstatieren Die Differenz im Wirkungswert von Sulfid- und Sulfatstickstoff ist gering und schwankt zugunsten des einen oder des anderen Düngemittels ein wenig. Calciumsulfid hat keinen schädigenden Einfluß ausgeübt.

b) Torfboden: Calciumsulfid hat den Ernteertrag vermindert Es ergibt sich dann für Sulfidstickstoff der Wirkungswert 0,67, der also ge-

¹⁾ Thala u, W., Landw. Vers. Stat. Bd. 82. p. 161.

rade den dritten Teil von dem des Sulfatstickstoffs ausmacht. Die Ursache dafür, weshalb die Wirkung des Sulfitstickstoffes so bedeutend hinter der des Sulfatstickstoffes zurückbleibt, dürfte dadurch zu erklären sein, daß im sauren Sphagnum-Torf die die Pflanzen schädigende schweflige Säure längere Zeit unverändert bleibt und unvollkommen oxydiert wird . . .

c) Sandboden: Die Wirkungsfaktoren von Sulfat- und Sulfitstickstoff sind annähernd gleich Durch Calciumsulfit sind bei der Haferernte keine nennenswerten Unterschiede im Wachstum und Ertrage zu verzeichnen.

Ergebnisse der Haferernte 1912.

a) Lehm Boden: Sulfat- und Sulfitstickstoff halten sich im Wirkungswert ungefähr das Gleichgewicht. Die Stickstoffausnutzung ist ungefähr ebenso groß wie im Vorjahre und unter Mittel geblieben.

b) Torfboden: Die Gaben von 0,15 g N pro Gefäß sind bei dem Sand, wie auch bei den Torfbodenkulturen weggelassen worden, da es ja in erster Linie nur darauf ankam, eine etwaige schädigende Wirkung der schwefligen Säure bei höheren Gaben von Ammoniumsulfat zu konstatieren. Hier nach berechnet sich der Wirkungswert des Sulfatstickstoffes auf 1,35 gegenüber 0,86 für Sulfitstickstoff, übersteigt also wiederum letzteren im Torfboden beträchtlich (um das 1½-fache, im Vorjahre um das 3-fache!). Für die Tatsache, daß die schwächste Gabe von schwefliger Säure einen geringeren Ertrag als die stärkere gab, liegt keine Erklärung vor.

c) Sandboden: Ammoniumsulfat hat hier auch in keinem Falle, selbst nicht bei den stärksten Gaben, schädlich gewirkt.

Zusammenfassung.

Will man aus den während der beiden Jahre 1911 und 1912 erhaltenen Resultaten einen Vergleich bezüglich der Wirkung von Sulfiten zu der Wirkung entsprechender Mengen von Ammoniumsulfat ziehen, so macht ganz besonders die Beschaffenheit des Bodens sich bemerkbar. Außer einem guten Lehm Boden waren zwei Böden von extremer Beschaffenheit verwendet, nämlich reiner Hochmoortorf (Torfstreu) und reiner Quarzsand.

a) Lehm Boden: Sowohl bei Senf- wie bei Haferkulturen hat sich Ammoniumsulfat dem Ammoniumsulfat vollständig gleichwertig erwiesen; durch Calciumsulfit und Natriumthiosulfat hat sich in keinem Falle eine Schädigung ergeben.

b) Torfboden: Auch im Versuchsjahre 1912 ist der Wirkungswert von Ammoniumsulfatstickstoff bedeutend geringer als der von Sulfatstickstoff. Die organischen Bestandteile des Hochmoortorfes hinderten die Oxydation der schwefligen Säure, die nun längere Zeit auf die Pflanze einwirkte, und zwar bei Gegenwart von Humussäure zum Teil im freien Zustand. Andererseits ist zu beachten, daß in beiden Jahren mit steigenden Gaben von Sulfit auch höhere Erträge erzielt wurden, und sich die Ertragskurven gut an das Gesetz vom Minimum anlegen. . . . Calciumsulfit hat entschieden ungünstig auf den Ertrag eingewirkt.

c) Sandboden: . . . Im allgemeinen hat der Stickstoff des Ammoniumsulfats im Sandboden fast ebenso gut wie derjenige des Ammoniumsulfats gewirkt. . . . Calciumsulfit hat bei den Haferkulturen keinen nennenswerten Ertragsrückgang gegenüber der Düngung mit reinem Ammoniumsulfat bewirkt. . . .

Vergleicht man die Wirkungswerte von Ammoniumsulfat- und Ammoniumsulfittstickstoff während beider Jahre, so ergibt sich:

Tabelle 1.

	Lehm		Torf		Sand	
	Sulfat	Sulfit	Sulfat	Sulfit	Sulfat	Sulfit
Senf 1911	0,8	0,72	—	—	—	—
Senf 1912	0,76	0,67	—	—	—	—
Hafer 1911	0,76	0,8	1,94	0,67	1,59	1,3
Hafer 1912	0,98	1,01	1,35	0,86	1,87	1,57

Setzt man den Wirkungswert von Ammoniumsulfatstickstoff hierbei gleich 100, so erhält man:

Tabelle 2.

	Lehm		Torf		Sand	
	Sulfat	Sulfit	Sulfat	Sulfit	Sulfat	Sulfit
Senf 1911	100	90	—	—	—	—
Senf 1912	100	88	—	—	—	—
Hafer 1911	100	105	100	34,5	100	82
Hafer 1912	100	103	100	64,0	100	83
Im Durchschnitt beider Jahre						
Senf	100	89	—	—	—	—
Hafer.	100	104	100	43,6	100	82,5

Kapitel II.

Widerlegung der Th al a u schen Untersuchungen und Schlüsse aus Tatsachen seiner eigenen Arbeit.

Was ist nun zu den Gründen, die Th al a u zur Erklärung der aufgetretenen Unterschiede zwischen den verschiedenen Bodenformen ausführt, zu sagen?

Nach meiner Meinung widerspricht sich Th al a u selbst in seinen Ausführungen. Er erklärt die Schädigung, die auf Pflanzenwachstum im Hochmoor durch Sulfite auftritt, dadurch, daß „die organischen Bestandteile des Hochmoortorfes die Oxydation der schwefligen Säure hinderten, so daß die schweflige Säure nun längere Zeit auf die Pflanzen einwirkte, und zwar bei Gegenwart der Humussäure zum Teil im freien Zustand“.

Dabei findet Th al a u, daß sich die schweflige Säure an der Luft und im Boden sehr leicht oxydiert zu Sulfat, so daß sie dann ihre giftige Wirkung vollkommen verlieren muß. Aus einer Tabelle, die Th al a u über diese Oxydationsversuche gibt, geht nun hervor, daß sich die Sulfite im Torf ungefähr gleich schnell wie in Erde oxydieren, dagegen aber schneller als im Sandboden. Die Unterschiede sind allerdings nur sehr winzig, die einzelnen Bestimmungen sind außerdem sehr verschieden, so daß man aus der Tabelle ebensogut erwarten konnte, daß im Sandboden eine Schädigung durch Sulfite auftreten müßte, nicht aber im Torfboden.

Zur Klärung der Frage sei hier der Th al a u sche Oxydationsversuch nach seiner eigenen Darstellung wiedergegeben. Die Oxydationsversuche wurden so angestellt, daß die verschiedenen Bodenarten mit Ammoniumsulfat in den Mengen, wie sie im Vegetationsversuch benutzt wurden, ver-

setzt wurden. Von diesen Proben wurden dann fortlaufend SO_2 -Bestimmungen gemacht. Die Ergebnisse dieses Versuches zeigt die folgende Tabelle:

Zahl der Tage	Lehmboden % SO_2	Torfboden % SO_2	Sandboden % SO_2
0	5,07	7,47	6,71
	3,46	7,64	6,02
	4,87		
1	1,82	1,93	2,4
	2,34	1,9	
2	0,77	1,64	2,24
3	0,81	1,52	0,93
6	0,66	0,53	0,61
	0,68	0,94	1,1
9	0,98	0,99	0,74
	0,44	0,63	0,54
12	0,633	0,74	0,84

Ein eigenartiges Schwanken der Werte fällt sofort jedem auf, z. B.

Lehmboden 0 Tag: 5,07 bis 3,46
Lehmboden 9 Tag: 0,98 bis 0,44 (50%).

Wie der Verf. selbst angibt, kommen beim Mischen von Sulfiten mit Erde Adsorptionerscheinungen in Frage. Ehe nicht der Einfluß dieses Faktors eingehend geprüft ist, kann aus dieser Tabelle nach meiner Meinung nicht der geringste Schluß gezogen werden.

Außerdem kommt noch eine Tatsache in Frage. Wie aus der Thalauschen Oxydationstabelle hervorgeht, sind vom sechsten Tage doch auf jeden Fall die SO_2 -Mengen im Lehmboden, wie im Torfboden vollkommen gleich (dabei hatte Torf scheinbar im Anfang einen höheren Prozentgehalt an SO_2 , da ich mir sonst die Verschiedenheit bei 0 Tagen im Lehmboden und Torf nicht erklären kann). Dabei gibt Thala an, daß der Aufgang der Samen im Jahre 1912 zwölf Tage nach der Aussaat erfolgte, wo doch schon vom sechsten Tage die Verhältnisse gleich waren. Eine Verzögerung im Aufgehen wird nur bei ganz hohen Ammoniumsulfidkonzentrationen beobachtet; es macht sich dann ein Unterschied von $1\frac{1}{2}$ Tagen bemerkbar. Dabei sollte man glauben, daß diese Verzögerung nur im Torf stattfinden würde; aber dabei gibt der Verf. selbst an, daß die Verzögerung in allen drei Bodenarten erfolgt! Wie steht diese Tatsache im Einklang mit den Ausführungen und Erklärungen des Verfassers? Dabei stellt sich noch heraus, daß bei diesen hohen Konzentrationen von Sulfid später nicht einmal eine Schädigung des Erntegewichtes gefunden wird, sondern im Gegenteil eine Förderung, während Versuche mit kleinen Sulfidmengen gerade beim Erntegewicht sich geschädigt zeigen, während im Anfang nicht die geringste Verzögerung oder Schwächung auftritt! Von dieser letzten Tatsache erwähnt der Verf. allerdings selbst, daß er sie sich nicht erklären kann, und daß sie keineswegs in Übereinstimmung mit seinen Erklärungen steht.

Und so ließen sich noch weitere Einwendungen, allerdings weniger maßgebend, finden. Nach all diesen Betrachtungen erscheinen die Erklärungsversuche von Thala nicht recht wahrscheinlich.

Kapitel III.

Erklärung der Thalauschen Versuchsergebnisse durch die Resultate der vorliegenden Arbeit.

Wie würden sich nun die von Th a l a u gebrachten Tatsachen erklären lassen, wenn man die Wirksamkeit von Thiosulfatbakterien in Betracht zieht und alle Unterschiede im Erntegewicht erklärt durch den in verschiedenen Mengen zersetzten Nitratsstickstoff, der ja aus dem Ammoniakstickstoff entstehen muß?

L i e s k e hatte allerdings gefunden, daß in Nährlösung Natriumsulfit als Energiematerial für Thiosulfatbakterien nicht dienen kann. Es erfolgt gar kein Wachstum der Bakterien. Diese Tatsache würde gut mit der Erfahrung von Th a l a u übereinstimmen, daß Sulfite in Nährlösungen für Pflanzen äußerst schädlich wirken und sehr bald die Pflanzen zum Absterben bringen. Und doch trat im Lehm Boden durch Zusatz von Sulfiten keine Schädigung des Pflanzenwachstums auf! Ähnlich verhalten sich auch die Thiosulfatbakterien. Schon L i e s k e gab an, daß diese Bakterien an ihren Standorten wohl jede niedrigere Oxydationsstufe des Schwefels zu Sulfat oxydieren können. Und eigene Versuche bestätigten diese Annahme.

Schon ehe die Th a l a u sche Arbeit mir bekannt war, war ein Erdversuch angesetzt, der zeigen sollte, daß auch Natriumsulfit als Energiematerial für Denitrifikation dienen kann. Als nach 5 Wochen der Versuch abgebrochen wurde, fand sich eine Nitratabnahme von 3,9 mg, eine Zahl, die nur wenig geringer ist als die Nitratzersetzung durch Thiosulfat im Boden.

Nachdem wirklich bestätigt war, daß Natriumsulfit ebenfalls als Energiematerial für Denitrifikation im Boden dienen kann, konnten die Th a l a u schen Versuchsergebnisse weiter in der angegebenen Fragestellung durchgearbeitet werden.

Einer der wirksamsten Faktoren auf die pflanzliche Vegetation ist der Stickstoffgehalt des Bodens. Und zwar war es lange Zeit hindurch eine Streitfrage, ob der für die Pflanze brauchbare Stickstoff im natürlichen Boden als Nitratsstickstoff oder auch als Ammoniakstickstoff aufgenommen werden kann.

Neuere Versuche¹⁾ lassen allerdings erkennen, „daß die Pflanze im natürlichen Boden auf Nitrat als alleinige Stickstoffquelle im wesentlichen angewiesen ist und deshalb die Frage der Stickstoffernährung der Pflanzen in unseren Fruchtfolgen gleichbedeutend ist mit der Frage nach der Entstehung und den weiteren Schicksalen des Nitrats im Boden.“

Als Beweis für diese Anschauung wird folgender Versuch angegeben: „Wenn man dem Boden Zellulose als Energiematerial für salpeterzersetzende Bakterien zufügt, so wandeln letztere das im Boden fortwährend neu entstehende Nitrat in Bakterieneiweiß um, und solange dieser Prozeß anhält, bleiben die in solchen Boden gesäten Pflanzen ganz klein und im Jugendstadium stehen. Sobald aber die Zellulose aufgezehrt ist, wird das neu entstehende Nitrat nicht mehr umgewandelt, bleibt erhalten, und von nun an wachsen auch die Pflanzen.“

Die genauen Zahlenbelege sind folgende:

¹⁾ K o c h , Pflanzennährstoffe d. Bodens unter dem Einfluß der Bakterien. (Zeitschr. „Kali“. 1912. u. K o c h , Ergebnisse zehnjähriger Feldversuche. (Journ. f. Landw. 1913. p. 254).

Mittelernte pro Gefäß in Gramm

	ohne Zellulose	mit Zellulose
1908 Buchweizen	22,1	3,0
1909 Rüben	17,7	4,4
1910 Senf, Buchweizen	12,9	14,6
1911 Buchweizen, Grünkohl . .	27,5	27,4

Diese Versuche zeigen aufs deutlichste, daß das im Boden vorhandene Nitrat von hervorragender Bedeutung für das Pflanzenwachstum ist.

In den Thalauschen Versuchen ist den Pflanzen als Stickstoffquelle nur Ammoniak gegeben. Obwohl Kossowitsch¹⁾, Gerlach und Vogel²⁾, Krüger³⁾ und andere nachgewiesen haben, daß die Pflanzen Ammoniak als Stickstoffnahrung verwenden können, und Krüger³⁾ gezeigt hat, daß die in den Thalauschen Vegetationsversuchen verwendeten Pflanzen — Senf und Hafer — „sich den beiden Stickstoffquellen — Ammoniak und Salpetersäure — gegenüber gleich verhalten, so daß sie sich für ihre Ernährung gleichwertig erweisen, . . .“ so möchte ich doch die Unterschiede im Erntegewicht, wie sie Thala bei seinen Vegetationsversuchen feststellen konnte, auf den in diesen Versuchen aus dem Ammoniak gebildeten Nitratstickstoff zurückführen. Voraussetzung ist bei dieser Erklärung der Versuche, daß wirklich im benutzten Torf eine Nitratbildung vorhanden ist, wie sie sich in dem im II. Teil dieser Arbeit erwähnten Versuch zeigte. Jedenfalls handelte es sich bei dem von Thala benutzten Torf um ausgetrocknete, gelagerte und ziemlich zersetzte Torfstreu, die wesentlich andere physikalische Bedingungen zeigt als frischer Hochmoortorf, so daß man in dem von Thala benutzten Torf sicherlich eine Nitratbildung erwarten kann!

Durch das zugesetzte Sulfit wird in den Vegetationsversuchen von Thala auch Energiematerial für denitrifizierende Thiosulfatbakterien gegeben, wie oben gezeigt ist. Im Lehm Boden und Sandboden ist die hierdurch bewirkte Denitrifikation äußerst gering, wie aus den im III. Teil angeführten Zahlen über die Umsetzungen dieser Bakterien im Boden hervorgeht. Die Bakterien können im Lehm Boden also nicht schädigend auf das Pflanzenwachstum einwirken. Ammoniumsulfid und Ammoniumsulfat müssen im Erdboden also das gleiche günstige Resultat auf das Erntegewicht hervorrufen. Dies entspricht vollkommen den Thalauschen Versuchsergebnissen:

Düngung	Ertrag
1. 0,745 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ + 0,789 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_3 = 0,3 \text{ g N}$	161,18 g
2. 0,070 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ + 1,570 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_3 = 0,3 \text{ g N}$	173,3 g
3. 1,41 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 = 0,3 \text{ g N}$	165,7 g

Eine Schädigung ist durch Sulfitzusatz wirklich nicht zu beobachten. Vielmehr tritt bei Erhöhung des Sulfitzusatzes, indem gleichzeitig auch die Stickstoffgabe erhöht wird, eine Erhöhung des Ernteertrages ein, indem eben durch das vermehrte Ammoniak die Nitratbildung gesteigert wird:

Düngung	Ertrag
1. 1,41 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 = 0,3 \text{ g N}$	165,7 g
2. 3,156 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_3 = 0,67 \text{ g N}$	223,7 g

¹⁾ Kossowitsch, Journ. f. exper. Landw. p. 637.

²⁾ Gerlach u. Vogel, Centralbl. f. Bakt. II. Bd. 14. p. 124. Weitere Angaben: Löhnis, Handb. d. landw. Bakt. 1910. p. 602.

³⁾ Krüger, Landw. Jahrb. Bd. 34. p. 761.

Ähnlich werden sich auch die Bakterienumsetzungen im Sandboden gestalten.

Ganz anders sind dagegen die Versuchsergebnisse im Torf. Sulfite üben auf jeden Fall eine Schädigung aus:

1911		
Düngung		Ertrag
1. 0,705 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0,15 g N	24,00 g
2. 1,41 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0,3 g N	29,82 g
3. 1,41 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ + 1,1 g CaSO_3	0,3 g N	24,56 g
4. 1,41 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ + 2,2 g CaSO_3	0,3 g N	24,12 g
5. 1,41 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ + 3,3 g CaSO_3	0,3 g N	23,60 g
6. 3,156 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_3$	0,57 g N	25,48 g
7. 0,72 g Burkheiser Salz	0,15 g N	19,56 g

1912		
1. 1,41 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0,3 g N	144,8 g
2. 1,846 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_3$	0,325 g N	137,1 g
3. 3,692 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_3$	0,65 g N	150,6 g
4. 5,538 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_3$	0,975 g N	167,1 g

Aus den Versuchen geht deutlich hervor, daß bei gleicher Ammoniumsulfatdüngung durch steigenden Gehalt an Calciumsulfid eine steigende Schädigung hervorgerufen wird (1911, Versuch 3, 4, 5); ferner, daß bei gleichem Stickstoffgehalt durch Zusatz von Ammoniumsulfat und Ammoniumsulfid eine Schädigung hervorgerufen wird (1911, Versuch 1 und 7; 1912, 1 und 2), daß hingegen bei steigenden Ammoniumsulfidmengen und daher steigenden Stickstoffmengen die Schädigung allmählich aufhört und in eine lebhaft Förderung des Erntegewichtes übergeht (Versuch 1911, 7; 1912, 2, 3, 4).

Wie sind nun diese Tatsachen durch die Bakterienumsetzungen zu erklären?

Im Anfang war gezeigt, daß die Nitratumsetzungen der Thiosulfatbakterien im Kompost, Torf und Schlamm ungleich größer sind als im Erdboden. Zunächst ist die Zahl der Bakterien eine viel größere, und dann sind die dort vorkommenden Rassen bedeutend virulenter als die im Erdboden. Die Nitratumsetzungen nehmen im Torf, Kompost usw. eine Größe an, daß sie wirklich im allgemeinen Stoffwechsel zur Geltung kommen, vor allem, wenn ihnen noch in derartiger Menge Energiematerial zugeführt wird. So muß man sich die Schädigung so erklären, daß das aus dem Ammoniakstickstoff gebildete Nitrat in beträchtlicher Menge von den Thiosulfatbakterien zersetzt wird. Diese Zersetzung steigt mit steigenden Calciumsulfidmengen; daher fällt das Erntegewicht mit steigendem Calciumsulfidgehalt (1911, Versuch 3, 4, 5).

Die Tatsache, daß bei steigendem Ammoniumsulfidzusatz keine Schädigung des Erntegewichtes eintritt, ist so zu erklären, daß durch die steigenden Ammoniakgaben die Bildung der Nitratsmengen bedeutend stärker gefördert wird als die Zersetzung des Nitrats, daß also trotz der weiter bestehenden, sicherlich auch geförderten Zersetzung des Nitrates trotzdem eine Schädigung des Erntegewichtes nicht zu beobachten ist, so daß man annehmen muß, daß zu jeder Zeit genügend Nitrat vorhanden ist, um eine stattliche Entwicklung der Pflanzen zu bewirken.

Ich glaube, auf diese Weise sind alle Versuchsergebnisse der Thalauschen Arbeit in einfacher und einleuchtender Weise erklärt. So ergeben diese

Tatsachen auch wieder eine ausgezeichnete Stütze und Bestätigung aller in meiner Arbeit gegebenen Resultate; vor allem ist die Bestätigung des Vorhandenseins der verschiedenen virulenten Rassen von größter Wichtigkeit und auch sicherlich großem Interesse.

Wichtig ist nun auch noch die Frage, ob die zugesetzten Mengen von Energiematerial wirklich diese Umsetzungen bewirken können. Da ist denn die Tatsache von Wichtigkeit, daß in den Töpfen die Substanzen einer nur verhältnismäßig kleinen Erdmenge zugesetzt wurden, so daß die Nährstoffe in einer Konzentration vorhanden waren, die diesen Thiosulfatbakterien eine lebhaftete Nitratumsetzung gestatten. Lehmboden und Sandboden kommen hier ja nicht so in Frage, weil in ihnen diese Bakterien einen derartigen Einfluß nicht ausüben. Es wäre also nur der Torf zu behandeln.

Der Verf. gibt bei seinen Oxydationsversuchen selbst an, daß 1 g Ammoniumsulfat auf 200 g Lehmboden resp. Sandboden oder 25 g Torf kommt und daß diese Menge den bei den Vegetationsversuchen benutzten Mengen gleich ist.

Das würde fast genau den Mengen entsprechen, die in meiner Arbeit meistens benutzt wurden und mit denen diese außerordentlich beträchtlichen Umsetzungen erzielt wurden. Somit dürfen auch von dieser Seite aus der von mir gebrachten Erklärung der Thalauschen Versuchsergebnisse keine Schwierigkeiten begegnen. Welchen Einfluß 100—150 mg N auf das Wachstum und das Ernteresultat haben, geht zur Genüge aus den Thalauschen Tabellen hervor. Und diese Mengen sind durch Zersetzung des Nitrats durch Thiosulfatbakterien bei den vorliegenden Energiemengen wirklich zu erreichen. Diese Zahlen geben natürlich nur an, was bei genügendem Nitratvorrat erreicht werden kann. Es genügt ja aber schon, daß die Thiosulfatbakterien in der Zeit, wo das meiste Nitrat von der Pflanze verbraucht wird, die Menge des vorhandenen Nitrats etwas herabzusetzen, um die Ernteerträge schon zu schädigen.

Also ein Mangel an Energiematerial kommt wirklich bei diesen Untersuchungen nicht in Frage.

So zeigt auch diese Arbeit wieder aufs deutlichste, daß es vielfach nicht genügt, allein vom agrikulturchemischen Standpunkte solche Fragen zu behandeln, daß es vielmehr von großer Bedeutung ist, auch die Umsetzungen dieser Stoffe im Boden zu verfolgen, die von Bakterien ausgelöst werden können. In einer erst ganz kürzlich erschienenen Arbeit behandelt J. Vogel¹⁾ die Einwirkung von Schwefel auf die bakteriellen Leistungen des Bodens. In dieser Arbeit wird der Schwefel aber immer nur in sehr geringen Mengen zugesetzt, so daß eine Verwendung als Energiematerial nicht in Frage kommt. Nur könnte die in der Einleitung von Vogel gebrachte Tatsache von Interesse sein, daß auch Schwefelzusatz zu Torf eine Schädigung des Erntegewichtes bewirkt. Dieses Versuchsergebnis bestätigt also sehr schön das Thalausche Resultat.

V.

Zum Schlusse dieser Arbeit sei noch eine kurze Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse gegeben:

1. Die von Lieske im Schlamm des Botanischen Gartens zu Leipzig aufgefundene autotrophe anaerobe, deni-

¹⁾ Vogel, Die Einwirkung von Schwefel auf die bakteriellen Leistungen des Bodens. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 40. p. 60.)

trifizierende Thiosulfatbakterie konnte auch für die verschiedensten Schlammarten der Göttinger und Hamelner Umgebung festgestellt werden. Dadurch ist für diese Bakterienart eine ausgedehnte Verbreitung sichergestellt.

2. Dieselbe Bakterie konnte auch für Göttinger Ackererde, Komposterde, Buchenwaldboden und für Hochmoortorf aus Ostfriesland nachgewiesen werden. Somit kommt dieser Form eine ganz ungeahnte weite Verbreitung zu und ihre Umsetzungen sind bei diesem allgemeinen Vorkommen von Bedeutung für den Haushalt der Natur.

3. Die Zahl dieser Bakterien ist in verschiedenen Tiefen von Ackererde und Torf ganz gleich.

4. Die Zahl dieser Bakterien ist in Ackererde, Komposterde, Buchenwaldboden und Torf sehr verschieden, und zwar steigt der Gehalt an diesen Bakterien mit steigendem Kohlenstoffgehalt des Bodens. Diese Tatsache wurde sowohl an den Umsetzungen dieser Bakterien in Nährlösung, wie auch in Böden festgestellt.

5. Neben der verschiedenen Menge vorhandener Bakterien lassen sich in den verschiedenen Böden gewisse Rassen dieser Bakterienform unterscheiden, die in ihrer Virulenz große Verschiedenheiten zeigen. Und zwar kann man die Formen von Kompost, Buchenboden und Torf zu einer größeren Gruppe von Rassen zusammenfassen und sie der Rasse aus Ackererde gegenüberstellen. Die Unterschiede in der Umsetzungsfähigkeit dieser Rassen verhalten sich wie 4:1.

6. Bei steigendem Thiosulfatgehalt zeigt sich eine steigende Nitratzersetzung sowohl in Nährlösung, wie auch in Boden. Ebenfalls steigt die Nitratzersetzung bei steigendem Nitratgehalt.

7. Das Nitrat als Sauerstoffquelle konnte nicht durch andere sauerstoffhaltige Substanzen wie Sulfat, Methylenblau usw. ersetzt werden.

8. Ebenfalls konnte das Thiosulfat als Energiematerial nicht durch andere, schwefelfreie Substanzen ersetzt werden, wohl aber durch schwefelhaltige. Als Kohlenstoffquellen wirkten Karbonat und Bikarbonat ganz gleich.

9. Durch Zusatz von Thiosulfat zu Böden kann eine lebhafte Denitrifikation hervorgerufen werden, die allerdings nicht ganz so stark ist wie bei Zusatz von organischem Energiematerial.

10. Bei der Nitratzersetzung durch Thiosulfatbakterien im Boden zeigten die Bakterien das gleiche Verhalten gegenüber der physikalischen Beschaffenheit des Bodens, wie es von Koch und Pettit für die heterotrophen Denitrifikationsbakterien nachgewiesen war.

11. Durch Zusatz von Bikarbonat zum Boden konnte eine lebhafte Steigerung der Nitratzersetzung im Boden bewirkt werden.

Tabelle 1.
Nitratumsetzungen in ungedüngter Ackererde.

No.	Wasser- gehalt %	Nitratgehalt in mg N pro 100 g trockenem Boden			Thiosulfatgehalt in g pro 100 g trockenem Boden			Dauer der Versuche
		Anfang	Ende	±	Anfang	Ende	Verbrauch	
1	18,44	1,084	1,307	+ 0,223	—	—	—	5 Wochen
2	18,44	86,87	86,8	—	—	—	—	"
3	18,44	86,87	81,1	— 5,77	1,226	0,002	— 1,224	"
4	16,68	—	2,43	—	—	—	—	6 Wochen
5	16,68	86,53	82,5	— 4,03	0,603	—	—	"
6	16,68	86,53	74,75	— 11,78	0,603	0,009	— 0,594	8 Wochen
7	18,—	85,86	80,6	— 5,26	1,186	0,010	— 1,176	10 Wochen
8	18,—	85,86	88,76	+ 2,9	0,593	—	— 0,593	14 Wochen
9	18,—	85,86	87,16	+ 1,3	1,186	0,010	— 1,176	"

Tabelle 2.
Nitratumsetzungen in Ackererde, Komposterde, Buchen-
waldboden und Torf.

No.	Wasser- gehalt %	Nitratgehalt in mg N pro 100 g trockenem Boden			Thiosulfat in g pro 100 g trockenem Boden	Dauer der Versuche	Bodenart
		Anfang	Ende	±			
1	18,44	86,87	81,1	— 5,77	1,226	5 Wochen	Erde
2	16,68	86,53	82,5	— 4,03	0,603	6 Wochen	Erde
3	18,—	85,86	87,16	+ 1,3	1,186	14 Wochen	Erde
4	26,36	7,34	13,45	+ 6,11	—	5 Wochen	Kompost
5	26,36	102,44	81,4	— 21,04	1,357	5 Wochen	Kompost
6	22,8	99,63	104,8	+ 5,2	1,295	14 Wochen	Kompost
7	64,2	212,94	259,5	+ 46,56	2,795	14 Wochen	Buchenwald- boden
8	110,—	212,94	31,79	— 181,15	2,795	14 Wochen	Buchenwald- boden
9	90,48	330,—	114,—	— 216,—	4,675	14 Wochen	Torf

Tabelle 3.
Einfluß des Wassergehaltes auf die Nitratumsetzungen und die Stickstoffentbindung in Ackererde,
Komposterde und Buchenwaldboden.

No.	Bodenart	Was- ser- gehalt %	Thiosul- fatgehalt in g pro 100 g trochn. Boden	Nitratgehalt in mg N pro 100 g trockenem Boden			Gesamtstickstoffgehalt in mg N pro 100 g trockenem Boden			Dauer der Versuche
				An- fang	Ende	±	An- fang	Ende	±	
1	Erde	18,00	1,186	85,86	80,6	— 5,26	216,12	192,7	— 23,42	10 Wochen
2	Erde	35,00	1,186	85,86	12,75	— 73,11	216,12	135,4	— 80,72	"
3	Kompost	22,8	1,295	99,63	104,8	+ 5,2	360,5	338,5	— 22,0	14 Wochen
4	Kompost	50,00	1,295	99,63	5,73	— 93,9	360,5	235,4	— 125,1	"
5	Buchenwaldboden	64,2	2,795	212,94	259,5	+ 46,56	—	—	—	"
6	Buchenwaldboden	110,00	2,795	212,94	31,79	— 181,15	—	—	—	"
7	Erde	18,00	2,372	85,86	76,55	— 10,31	—	—	—	"
8	Erde	35,00	2,372	85,86	18,80	— 67,06	—	—	—	"

Tabelle 4.

Nitratumsetzungen bei steigendem Thiosulfat- und Nitratgehalt in Ackererde.

No.	Wasser- gehalt %	Nitratstickstoff in mg N pro 100 g trockenem Boden			Thiosulfatgehalt in g pro 100 g trockenem Boden			Dauer der Versuche
		Anfang	Ende	±	Anfang	Ende	Verbrauch	
1	18,44	1,084	1,307	+ 0,223	—	—	—	5 Wochen
2	18,44	86,87	86,8	—	—	—	—	"
3	18,44	86,87	81,1	— 5,77	1,226	0,002	— 1,224	"
4	18,44	86,87	78,4	— 8,47	2,452	0,005	— 2,447	"
5	18,44	86,87	76,7	— 10,17	3,678	0,018	— 3,60	"
6	18,44	86,87	73,7	— 13,17	4,904	0,020	— 4,884	"
7	18,44	172,58	167,6	— 5,0	1,226	—	— 1,226	"
8	18,44	344,08	318,5	— 25,5	1,226	—	— 1,226	"
9	18,44	172,58	162,9	— 9,7	2,452	0,007	— 2,445	"
10	18,44	172,58	161,6	— 11,0	3,678	0,012	— 3,665	"
11	18,44	344,08	314,5	— 29,5	2,452	0,003	— 2,449	"
12	18,44	344,08	302,00	— 42,0	3,678	0,012	— 3,666	"
13	18,—	85,86	88,76	+ 2,9	0,593	—	— 0,593	14 Wochen
14	18,—	85,86	87,16	+ 1,3	1,186	0,010	— 1,176	"
15	18,—	85,86	76,55	— 10,31	2,372	0,019	— 2,353	"
16	35,—	85,86	18,80	— 67,06	2,372	0,012	— 2,360	"

Tabelle 5.

Wirkung verschiedener Schwefelquellen auf die Nitratumsetzung in Ackererde.

No.	Wasser- gehalt %	Schwefelquelle	Nitratgehalt in mg N pro 100 g trockener Boden			Gehalt an schwefel- haltiger Substanz	Dauer der Versuche
			Anfang	Ende	±		
1	18,44	ohne Zusatz	1,084	1,307	+ 0,223	—	5 Wochen
2	18,44	Thiosulfat	86,87	81,1	— 5,77	1 %	"
3	18,44	Na ₂ SO ₃	86,87	83,2	— 3,67	0,5 %	"
4	18,44	Na ₂ S	86,87	83,2	— 3,67	0,5 %	"
5	18,44	S	86,87	85,00	— 1,87	0,5 %	"
6	18,44	Thiosulfat + 0,2 % NaHCO ₃	86,87	64,15	— 22,72	1 %	"

12. Die Ergebnisse der Thalauschen Arbeit: „Die Einwirkung von im Boden befindlichen Sulfiten, von Thiosulfat und Schwefel auf das Wachstum von Pflanzen“ kann in ausgezeichnete Weise durch die in dieser Arbeit erhaltenen Resultate erklärt werden.

Diese Arbeit wurde im Kgl. landwirtschaftlich-bakteriologischen Institut der Universität Göttingen ausgeführt. Es sei mir gestattet, Herrn Prof. Dr. A. Koch an dieser Stelle für die Anregung zu dieser Arbeit und die freundliche Unterstützung meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen.

Nachdruck verboten.

Elektrolytische Bestimmung der biologischen Bodenaufschließung.

Von E. Pantanelli, Dr. sc., Dr. chim.,
k. Landwirtschaftsministerium, Rom.

Die Messung der elektrolytischen Leitfähigkeit der Bodenlösung eignet sich zur Verfolgung des Auflösungsvermögens der Mikroflora eines Bodens. König, Hasenbäumer und Glenk¹⁾ haben schon auf die Vorteile dieser Messung für die Bestimmung der Lebenskraft des Bodens hingewiesen. Ihre Methode besteht im wesentlichen darin, daß sie die Leitfähigkeit des wassergesättigten Bodens vor und nach Zusatz von 1 g Glukose, resp. 1 g Harnstoff zu 1 kg Erde bestimmen. Die elektrolytische Leitfähigkeit war bei ihren Versuchen im Vergleich zu den Kontrollen bei den Glukoseproben verringert, bei den Harnstoffproben bedeutend erhöht; Harnstoff dürfte sich rasch in Salpetersäure umwandeln, Glukose soll als Nichtelektrolyt die Ionenwanderung hemmen.

Diese Erklärung trifft für Harnstoff gewiß zu; darum darf man keinen die Salpeterbildung direkt oder indirekt fördernden Stoff zusetzen, wenn man die Lösungswirkung auf mineralische Bodenbestandteile mit Hilfe der elektrolytischen Methode verfolgen will. Ob Glukose in jener Konzentration unter den Bodenbedingungen die Ionenwanderung wirklich beeinträchtigt, möchte ich zunächst dahingestellt sein lassen, denn es wäre auch denkbar, daß Glukose den Verbrauch an Bodensalzen durch Beförderung des Pilzwachstums steigert, wie dies bei pilzreichen Humusböden stattfinden muß.

Wohl aber kann man gegen den Zusatz von Glukose einwenden, daß Glukose selbst eine lösende Wirkung auf Bodenbestandteile ausüben kann, wie es z. B. für einige Kalk- und Eisenverbindungen bekannt ist. Immerhin kann man auf den Glukosezusatz bei derartigen Untersuchungen nicht verzichten, weil das Bakterien- und Pilzwachstum dadurch erheblich gefördert wird, was schließlich zu einer viel stärkeren Auflösung von Bodenbestandteilen führt. Wir erkennen dann mit größerer Sicherheit, 1. ob der Boden die nach Zusatz einer günstigen Kohlenstoffquelle stark anwachsenden, durch ihre Ausscheidungen am meisten bodenlösenden Organismen enthält, 2. ob der Boden auf mikrobischem Wege leicht aufzulösende Komponenten besitzt. Von beiden Faktoren hängt natürlich das sog. Solubilitätsvermögen des Bodens ab.

Am besten verfährt man bei solchen Untersuchungen nach Stoklasa und anderen Forschern, indem man auf die Tätigkeit von Bodenorganismen aus dem Vergleiche der vollen Tätigkeit mit der Umwandlung bei Gegenwart von Anaestheticis schließt.

Da ich auch diese Kontrolle ebenso wie den Zuckerzusatz für notwendig halte, habe ich der Methode zur Messung der biologischen Auflösung von Bodenmineralien folgende Gestalt gegeben:

Die Bodenproben wurden mit einem sauberen Spaten oder mittels eines amerikanischen Bohrers in verschiedener Tiefe entnommen und in sterili-

¹⁾ König, J., Hasenbäumer, J. u. Glenk, K., Über die Anwendung der Dialyse und die Bestimmung der Oxydationskraft für die Beurteilung des Bodens. (Landwirtsch. Versuchsstat. Bd. 80. 1913. p. 491.) — Vgl. auch Davis, R. O. E. and Bryan, H., The electrical bridge for the determination of soluble salts in soils. (U. S. Dep. Agr. Bur. Soils. Bull. No. 61. 1910.)

sierten Leinwandsäcken transportiert. Gleich nach der Ankunft wurden die Proben in sterilisierte Glasschalen ausgebreitet und im Thermostaten austrocknen gelassen. Nach der Trocknung wurden die Böden durch geschlossene, sterile Blechsiebe gesiebt und die Feinerde in sterilen Gläsern konserviert.

In sterilen Filterdosen abgewogene 25 g Feinerde wurden in unten verjüngte, mit Watte geschlossene und im Ablauf mit Watte ebenfalls verstopfte Röhren unter schwachem Klopfen gegossen. Ich ließ dann 25 ccm steriles Leitfähigkeitswasser, resp. 25 ccm desselben, mit Chloroform gesättigten Wassers, oder 25 ccm 0,5-proz. Glukose, resp. 25 ccm derselben mit Chloroform gesättigten sterilen Glukoselösung in Leitfähigkeitswasser zufließen. Nach dem Fallen des letzten Tropfens aus der Abflußspitze wurde die elektrolytische Leitfähigkeit der perkolierten, gut durchgemischten Flüssigkeit gemessen.

Darauf wurden die Proben im Thermostaten bei 25° C in großen Glasdosen mit geschliffenem Deckel aufbewahrt; bei den Chloroformproben wurde mit Chloroform gesättigte Luft benutzt. Nach 3 und 7 Tagen wiederholte ich in derselben Weise die Perkolation und elektrolytische Messung.

Die benutzten Erdproben stammten meistens aus der Gegend von Tripolis, da diese Studien im Anschluß an eine Untersuchung der Mikroflora der libyschen Wüste vorgenommen wurden; zur Kontrolle dienten einige Proben aus Neapeler Ackerböden. Um das Verständnis der beobachteten Unterschiede im Verhalten der untersuchten Bodenarten zu erleichtern, teile ich zunächst die Keimzahlen derselben Proben mit, wie sie mit Hilfe von Bodenextrakt-gelatine nach L ö h n i s ¹⁾ ermittelt wurden:

Tausende von Keimen in 1 g Feinerde.

No.	Ortschaft	Tiefe m	Schizomyceten			Aktino- myceten	Eumyceten	
			ver- flüss.	nicht ver- flüss.	Summe		Sac- charo- myceten	Hypho- myceten
1	Schara-Schat	0,1	115	57	172	10	0	15
2	"	0,5	62	20	82	0	0	18
3	"	1,0	34	18	52	0	0	36
4	"	1,5	0	2	2	0	0	4
5	Halled Fares	0,15	4	24	28	7	0	8,5
6	"	0,5	30	39	69	26	0	19
7	"	1,0	24	8	32	23	0	1
8	"	1,5	0,5	7	7,5	5	0,5	1,5
9	Sidi Bargub	0,15	0	8	8	8	0	6
10	"	0,5	0	1	1	0	0	245
11	"	1,0	0	2	2	2	0	29
12	"	1,5	20	6	26	46	0	40
17	Sebkha Tadjura	0,5	18	16	34	15	1	4
18	"	1,0	2	4	6	17	0	1
19	"	1,5	1	4	5	0	0	2
20	Sebkha Zuara	0,3	0	7	7	20	0	96
21	Ortella	0,3	2	29	31	16	0	35
22	Tachuna	0,3	35	75	110	435	1	21
a	Neapel, Brache	0,8	34	129	163	99	0	203
b	"	1,0	58	147	205	234	0	202
c	" gedüngt	0,15	600	803	1403	232	2	311
d	Capua, Wiese	0,1	480	80	560	0	0	10
e	" ungebaut	0,15	40	420	460	236	80	30

¹⁾ Landwirtschaftlich-bakteriologisches Praktikum. 1911. p. 119.

Die Proben von Schara-Schat wurden inmitten eines verlassenen und schon versandeten arabischen Gartens entnommen. Halled Fares liegt in einer öden Landschaft zwischen Sandhügeln; Sidi Bargub liegt direkt in der Wüstensteppe. Als Sebkhä bezeichnen bekanntlich die Araber Salzsümpfe; die Probe aus der Sebkhä von Zuara war mit Salz verkrustet. Die Proben 21 und 22 stammten aus verlassenem Gerstenfeldern, resp. Gärten. Alle diese Böden hatten seit langem weder Berieselung noch Regen erhalten; da die Proben Ende März und April gesammelt wurden, so war die Feuchtigkeit schon unter 5 Proz. gesunken, als ich die Muster erhielt. Damit lassen sich die so spärlichen Keimzahlen erklären, wie sie bei den Wüstensteppen und Dünen ebenso wie bei Sebkhäböden ermittelt wurden. Eine etwas reichere Mikroflora fand ich bei Gartenböden, die beinahe ebenso keimreich wie die der tieferen Schichten brachliegender Böden aus der Umgebung von Neapel waren (vgl. Proben a und b).

Allerdings waren auch die Proben aus Neapel und Capua während einer trocknen Zeit entnommen worden; die Neapler Böden bestanden zum größten Teil aus vulkanischem Sande, die Proben d und e aus Capua waren ton- und kalkreicher.

Verflüssigende Bakterien wurden nur in den oberen Schichten und bei bebautem Boden gefunden; die Abnahme der Keime mit der Tiefe war bei allen Sandböden sehr deutlich. *Streptothrix*-Arten waren bei Wüstenböden recht häufig, manchmal ebenso häufig wie Bakterien; Sproßpilze kamen nur selten vor, Mycelpilze waren auch bei Wüsten- und Sebkhäböden manchmal recht zahlreich vorhanden.

Spezifische Leitfähigkeit der perkolierten Flüssigkeit:

I zu Anfang; II nach 3 Tagen; III nach 7 Tagen.

Es wurde perkoliert

No.	Wasser			Wasser + Chloroform			0,5 % Glukose			0,5 % Glukose + Chloroform		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
1	3,80	2,80	2,47	3,29	2,92	1,70	5,32	5,36	2,67	5,31	3,35	2,32
2	3,92	2,43	2,26	2,87	2,34	1,13	4,34	8,24	1,81	4,79	2,81	1,72
3	4,12	2,89	2,26	5,08	3,34	3,40	4,23	4,43	4,95	4,58	3,39	3,29
4	8,01	2,63	1,69	7,32	3,18	3,25	11,20	3,94	3,80	6,93	3,39	3,21
5	1,77	1,27	1,32	3,58	3,32	3,31	3,39	6,63	10,91	3,44	3,39	3,32
6	1,58	0,92	0,95	3,66	3,03	3,28	3,44	4,30	3,84	3,46	3,11	3,36
7	1,79	0,91	1,0	3,41	3,03	3,16	3,26	3,68	3,75	3,15	3,19	3,21
8	1,99	0,96	1,02	3,56	2,98	3,31	5,35	4,45	3,94	3,29	3,19	3,28
9	2,93	1,53	1,56	4,45	3,42	3,47	2,29	9,94	1,22	3,66	3,96	3,55
10	2,24	1,21	1,27	3,63	4,21	3,31	3,26	4,21	3,78	3,24	3,35	3,34
11	2,73	0,95	1,09	3,70	4,02	3,19	3,26	3,71	3,50	2,92	3,08	3,21
12	3,59	1,0	1,16	4,50	4,02	3,19	3,94	3,59	3,52	3,99	3,15	3,19
17	41,34	7,33	7,22	42,29	14,73	9,35	50,38	51,94	18,92	41,33	10,76	6,14
18	25,48	3,46	3,35	17,06	5,81	3,77	14,77	7,72	11,72	15,43	3,73	3,61
19	22,83	2,96	2,87	23,0	5,08	3,65	24,41	7,72	9,42	26,19	3,73	3,44
20	372,5	37,45	40,12	258,9	38,07	30,45	211,47	36,65	42,29	403,7	37,55	25,15
21	8,31	6,13	5,27	4,93	6,19	4,27	7,79	29,68	20,78	7,38	5,27	4,53
22	5,21	4,37	7,74	6,08	4,39	4,04	6,80	20,11	16,84	7,94	3,98	3,64
a	1,61	1,75	1,56	3,40	3,99	4,33	2,35	5,19	17,96	4,06	3,26	3,48
b	1,42	2,24	1,29	3,30	3,87	3,56	3,39	5,27	22,78	3,24	3,35	3,50
c	6,63	4,12	2,89	24,04	8,20	8,88	24,49	26,79	20,41	29,09	7,71	5,45
d	3,21	6,50	3,15	3,97	6,62	5,57	3,41	8,98	12,39	3,10	4,55	4,36
e	4,69	5,01	4,13	2,22	5,01	8,08	3,90	23,74	34,13	3,84	7,41	5,16

Mit diesen Böden wurden die Selbstauflösungsversuche vorgenommen, da dieselben einen großen Gehalt an feinsten Sand aufwiesen, dabei eine große Durchlässigkeit besaßen, wodurch die Perkolation erleichtert und eine gute Durchlüftung der ganzen Probe auch im naßen Zustande gesichert waren.

Die elektrolytische Leitfähigkeit wurde in üblicher Weise mittels der Wheatstonschen Brücke bestimmt; in der Tabelle auf p. 441 ist $k_{25} \times 10^4$ angegeben.

Bei den mit reinem Wasser durchtränkten Böden sank die elektrolytische Leitfähigkeit konstant ab, d. h. sie wurden vom Wasser ausgelaugt; die durch Befeuchtung erweckte Vermehrung von Organismen war von keiner deutlichen Lösungswirkung begleitet. Nur bei drei Neapler Böden war nach 3 Tagen eine geringe Zunahme des Ionengehaltes der Perkolutionsflüssigkeit zu beobachten¹⁾.

Zusatz von Chloroformwasser bewirkte zunächst bei 16 Proben ein stärkeres Auslaugen von Bodensalzen, bei den übrigen 7 Proben war die Entlassung schwächer als bei Zusatz reinen Wassers. Dadurch wird die Angabe von Giglioli²⁾, wonach Äther und Chloroform die Bodenpermeabilität für gelöste Stoffe erhöhen sollen, in den meisten Fällen, aber nicht immer bestätigt.

Chloroform hemmte die weitere Auflösung von Bodenbestandteilen vollständig; nur in 7 Fällen war eine begrenzte Auflösung zu verzeichnen; immerhin wurden bei Chloroformgegenwart auch nach 7 Tagen meistens viel mehr Salze als beim Durchfluß reinen Wassers ausgelaugt.

Zusatz von Glukoselösung führte in 18 Fällen eine stärkere Auswaschung von Bodensalzen herbei³⁾ und ließ eine starke Auflösung von Bodenbestandteilen zustande kommen, was nur durch die gesteigerte Vermehrung von Mikroorganismen zu erklären ist, um so mehr als eine grobe Proportionalität zwischen der ursprünglichen Keimzahl und der Energie der Auflösung in den meisten Fällen bestand.

Unter den libyschen Böden ergaben nur die oberflächlich entnommenen Proben von Gartenböden eine Auflösung; die Wüstensande hatten beinahe kein Solubilitätsvermögen, bei Sebkhäböden war ein solches nur in der Tiefe zu beobachten und trat erst nach dem Aussalzen zutage. Die bakterienreicheren Neapler Böden zeigten ein viel stärkeres Auflösungsvermögen als die libyschen Erden; immerhin war auch bei den Proben 21 und 22 eine kräftige Solubilisation zu beobachten.

Übrigens hängt das Lösungsvermögen weniger von der Gesamtzahl der Keime als vom Vorkommen kräftiger, nach Glukosezufuhr stark anwachsender Säure- oder Ammoniakbildner ab. Außerdem gestattet unsere Methode nur die Gesamterscheinung zu verfolgen; ein gleiches Ergebnis kann aber von der Natur des Bodens ebenso wie von der Vermehrung besonders tätiger Keime abhängen.

¹⁾ Die Schwankungen des Salzgehaltes der Perkolutionsflüssigkeit bei wiederholter Auslaugung zeigen, daß nur die zuerst perkolierte Flüssigkeit zu untersuchen ist, wenn man vergleichende Untersuchungen über die Konzentration der Bodenlösung ausführen will.

²⁾ Rendiconti Accad. Lincei. Ser. 5. 20. 1911. II. Sem. p. 349—361.

³⁾ Ein Vergleich dieser Angabe mit den Beobachtungen von König und Mitarbeitern wäre kaum gerechtfertigt, da diese Forscher die elektrolytische Leitfähigkeit der wassergesättigten Erde direkt maßen, wobei Glukose die Ionenwanderung hemmen konnte, während ich die Leitfähigkeit der meistens glukosefreien Perkolutionsflüssigkeit bestimmte.

Den Umfang und Verlauf der mikrobiologischen Solubilisation zeigt der Vergleich der Glukoseproben mit den Chloroformglukoseproben. Bei dieser Behandlung entließ der Boden nur in 7 Fällen etwas mehr Salze, meistens trieb die erste Perkolation ebensoviel Ionen als der Durchfluß reiner Glukose-lösung heraus; in 5 Fällen setzte Chloroform die Auslaugung herab.

In 11 Proben wurden bei Zusatz von Glukose und Chloroform weniger Salze als bei Zusatz von Chloroform allein auselant; bei weiteren 9 Fällen war das Gegenteil zu beobachten; ich lasse daher unentschieden, ob Glukose die Auswaschung von Bodenionen der Regel nach verringert.

Beim weiteren Stehen der Proben hemmte Chloroform auch bei Glukose-gegenwart die Auflösung der Bodenbestandteile vollständig, da der Ionen-gehalt der Perkolutionsflüssigkeiten nach und nach geringer wurde. Nur bei den Wüstensanden war keine Abnahme zu beobachten, d. h. es löste jede Perkolation wiederum die gleiche Menge Ionen aus den Bodenteilchen heraus. Bei dem Capuaner Boden d und e ging eine Auflösung auch bei Gegenwart von Glukose und Chloroform vor sich; beide waren allerdings tonreicher, was vielleicht das Eindringen des Chloroforms erschweren konnte.

Die Messung der elektrolytischen Leitfähigkeit eignet sich zur Verfolgung der mikrobiologischen Solubilisation von Bodenbestandteilen, insbesondere wenn man den Versuch vergleichsweise mit und ohne Zusatz von Chloroform und Glukose führt.

Chloroform steigert, Glukose verringert ab und zu das Auslaugen der Bodensalze. Das Solubilisationsvermögen schwankt meistens, aber nicht immer, mit dem Keimgehalt des Bodens.

Die Methode läßt sich auch für die Bestimmung der Lösungswirkung einzelner Mikrobenarten in Reinkultur benutzen, wobei einerseits die relative Wirksamkeit verschiedener Arten auf einen Standardboden, andererseits durch Einwirkung eines gut bekannten Säure- oder Ammoniakbildners die Fähigkeit verschiedener Böden, sich auf mikrobiologischem Wege auflösen zu lassen, mit gleicher Schnelligkeit bestimmt werden können.

Neue Literatur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. OTTO HAMANN,

Oberbibliothekar der Kgl. Bibliothek in Berlin.

Wein, Weinbereitung.

- Brunet, Raymond**, Le débourage. (Rev. de viticult. Année 21. 1914. No. 1070. p. 685—689.)
- Garino, E.**, Determinazione dell' arsenico nel vino proveniente da uve soggette a trattamento cupro-arsenicale. (Ann. R. Accad. di Agricolt. Torino. Vol. 56. 1913. p. 78—82.)
- Jacquemin, G. et Gimel, G.**, Influence de la radioactivité sur les levures et sur la fermentation alcoolique. (Rev. de viticult. Année 21. 1914. No. 1068. p. 639—640.)
- Kloß, J.**, Über den Einfluß von Chloroform und Senföl auf die alkoholische Gärung von Traubenmost. (Zeitschr. f. Gärungsphysiol. Bd. 4. 1914. H. 3. p. 185—193.)
- Leron, Jean**, La fermentation des vins blancs. (Rev. de viticult. Année 21. 1914. No. 1069. p. 660—662.)
- Marcille, M. R.**, Sur les matières azotées du moût de raisin. (Rev. de viticult. Année 21. 1914. No. 1072. p. 18—19.)
- Mensio, Carlo**, Una proposta per la vinificazione nel Mezzogiorno. (Ann. R. Accad. d'Agricoltura. Torino. Vol. 56. 1913. p. 67—77.)
- ed **Garino, E.**, L'energia acida dei vini. (Ann. d. R. Accad. d'Agric. di Torino. Vol. 56. 1913. p. 139—175.)
- , Il carbonato ammonico nella vinificazione. (Le Stazioni sperimentali agrarie Ital. Vol. 65. 1912. Fasc. 5/6. p. 381—432.)
- , La determinazione dell' estratto nei vini e nei vermouth. Asti (Costelli e Sacerdote) 1913. 23 p. 8°.
- Moreau, L. et Vinet, E.**, Études sur la vinification des raisins blancs de chenin. (Rev. de viticult. Année 21. 1914. No. 1070. p. 679—682.)

Fleisch.

- Edelmann, Richard**, Lehrbuch der Fleischhygiene mit besonderer Berücksichtigung der Schlachtvieh- und Fleischbeschau. Für Studier. d. Veterinärmed., Tierärzte, Fleischbeschauer, Ärzte und Verwaltungsbeamte. 3. umgearb. Aufl. Jena, Fischer, 1914. XVI, 442 p. 8°. 4 Taf. u. 221 Fig. 13 M.
- Müller, Kunibert**, Inspektion, Palpation, Sektion bei der Ausübung der Fleischuntersuchung. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jahrg. 24. 1914. H. 11. p. 245—247.)
- Sacquépée, E. et Loggée, P.**, Recherches sur la bactériologie des produits de charcuterie. (Compt. rend. soc. biol. T. 76. 1914. No. 17. p. 820—822.)

Andere Nahrungsmittel.

- Grimme, Clemens**, Über die physiologische Wirkung einiger als Konservierungsmittel in der Nahrungsmittelindustrie gebrauchten Substanzen. (Konserven-Ztg. Jg. 15. 1914. No. 13. p. 98—99; No. 15. p. 114—115.)
- , Über die quantitative Bestimmung sehr kleiner Mengen von Borsäure und den natürlichen Borsäuregehalt zahlreicher pflanzlicher und tierischer Nahrungsmittel. Konserven-Ztg. Jg. 15. 1914. No. 20. p. 153—154.)

Wohnungen, Abfallstoffe, Desinfektion usw.

- Bokorny, Th.**, Einige orientierende Versuche über die Behandlung der Samen mit Giften zum Zweck der Desinfektion. (Biochem. Ztschr. Bd. 62. 1914. H. 1/2. p. 58—88.)
- Bonne, G.**, Die Reinhaltung der Gewässer (Stiftung f. Heimatschutz, Verwaltungssitz Meiningen). 15 p. 8°. Meiningen, Stiftg. f. Heimatschutz, 1914. (Nur direkt.) —, 15 M. (Partiepreise.)
- Borione, G.**, Ricerche su alcuni nuovi disinfettanti (Taurina, Cyllin, Morbucid). (Riv. di igiene e di sanità pubbl. Anno 25. 1914. No. 5. p. 120—125.)
- Fowler, Gilbert**, The present position of the sewage disposal problem. (Surveyor. Vol. 45. 1914. No. 1157. p. 504—506.)
- Kammann, O.**, Zur Beurteilung der Wirkung von Abwasserreinigungsanlagen mit besonderer Berücksichtigung des neuerdings von der 8. englischen K. Kommission aufgestellten Grenzwerts. (Gesundheits-Ing. Jg. 37. 1914. No. 15 p. 286—288.)

- v. Kukuljevic, J.**, Desinfektion in der Landwirtschaft. (München. Tierärztl. Wochenschr. Jg. 65. 1914. No. 8. p. 171—177; No. 9. p. 196—202.)
- Lederer, Arthur**, A new method for determining the relative stability of a sewage, effluent, or polluted river water. (Journ. of infect. dis. Vol. 14. 1914. No. 3. p. 482—497.)
- Lhuillier et Belle, E.**, Manuel pratique de désinfection. (Chartres, Lépinay, 1914. 484 p. 8^o 114 Fig.)
- Micksch, Karl**, Flaschenreinigung. (Ztschr. f. d. ges. Kohlensäure-Ind. Jg. 20. 1914. No. 21. p. 485—486.)
- Peschges**, Die Klärung und Reinigung von städtischen und gewerblichen Abwässern. (Gesundheit. Jg. 39. 1914. Nr. 8. p. 233—240.)
- Wüst, Gustav**, Beiträge zur Transportfaßfrage. Über die Desinfektion der Transportfässer mit schwefliger Säure. (Wochenschr. f. Brauerei. Jg. 31. 1914. No. 25. p. 233 bis 235. 6 Fig.)

Gebrauchsgegenstände.

- Riederer, A.**, Ein Erlebnis mit paraffinierten Korken. (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrikat. Jahrg. 42. 1914. No. 15. p. 147—148.)
- Rossi, Giacomo**, Sesto contributo allo studio della macerazione della Canapa. La macerazione della canapa di Terra di Lavoro coi fermenti pectici aerobici. Portici, Stap. tip. Vesuviano, 1914. p. 259—266. (Ann. d. R. Scuola Sup. d'agric. di Portici. Vol. 12.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

- Appel, Otto**, Die Brennfleckenkrankheit der Bohnen u. ihre Bekämpfung. [Mit 3 Abbildg.] (Mitt. d. Deutschen Landw. Gesellschaft. 1914. No. 18. p. 249—251.)
- Barker, B. T. P., and Grove, Otto**, A bacterial disease of fruit blossom. (Ann. of applied biol. Vol. 1. 1914. No. 1. p. 85—97.)
- Bernatsky, J.**, Über das Krautern des Weinstockes. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. 24. 1914. H. 3. p. 129—139. 2 Fig.)
- Börner, Carl**, Blattlausstudien. (Abhandlungen, hrsg. v. Naturwiss. Ver. in Bremen. 1914. Bd. 23. H. 1. S. 164—184.)
- Braun, K.**, Beiträge zur Kenntnis der Blattflecken an Sisalagaven. [Mit 3 Taf.] (Der Pflanz. 1914. No. 4. S. 188—197.)
- Briosi, Giovanni e Farneti, Rodolfo**, Sulla moria dei castagni (Mal dell' inchiostro). (Atti Istit. bot. Univ. Pavia. Ser. 2. T. 13. 1914. p. 291—298, 1 Taf.)
- , Rassegna crittogamica dell' anno 1908, con notizie sulle malattie dell' erba medica causate da parassiti vegetali. (Atti Istit. bot. Univ. Pavia. Ser. 2. Vol. 13. 1914. p. 387—411.)
- Brunet, Raymond**, Le Pourridié. (Rev. de viticult. Année 21. 1914. No. 1066. p. 561—567.)
- Cameron, A.E.**, Life-history of *Pegomyia hyoscyami*. (Ann. of applied biol. Vol. 1. 1914. No. 1 p. 43—76. 2 Taf. u. 4 Fig.)
- Capus, J.**, Invasions de mildiou dans le vignoble français en 1913. (Rev. de viticult. Année 21. 1914. No. 1060. p. 398—403; No. 1061. p. 428—433; No. 1063. p. 479—483; No. 1064. p. 508—513.)
- Chauvigné, Auguste**, L'hivernage de l'Eudémis. (Rev. de viticult. Année 21. 1914. No. 1063. p. 477—479, 1 Fig.)
- D.**, Mitteilungen der Abteilung für Pflanzenkrankheiten am Kaiser-Wilhelm-Institut in Bromberg. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. 24. 1914. H. 3. p. 148—149.)
- Deakin, R. H.**, Caterpillars attacking oaks in Richmond Park. (Ann. of applied bot. Vol. 1. 1914. No. 1. p. 77—84. 6 Taf.)
- Demandt, Ernst**, Die Krankheiten und Schädlinge des Kakaos. (Beih. z. „Tropenpflanzer. 1914. No. 2/3. p. 250—284, mit Abbild.)
- Detmann, H.**, Phytopathologische Mitteilungen aus der Südafrikanischen Union. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. 24. 1914. H. 4. p. 218—220.)
- Eriksson, Jacob et Hammarland, Carl**, Essais d'immunisation de la Rose trémière contre la maladie de la Rouille (*Puccinia malvacearum* Mont.) No. 6. p. 420—423.
- Familler, Ign.**, Neue Moosgallen aus Bayern. (Hedwigia. Bd. 54. 1914. H. 6. p. 264—266, 5 Fig.)
- Feytaud, J.**, La mortalité des Chrysalides de *Cochylis* et d'Eudémis pendant l'hiver. (Rev. de viticult. Année 21. 1914. Nr. 1066. p. 573—575.)
- Fulmek, Leopold**, Ein neuer Getreideschädling? (Mitt. d. k. k. landw.-bakteriol. u. Pflanzenschutzstat. in Wien; Wiener landw. Ztg. No. 20. 25. März 1914, 6 Fig.)

- Fulmek, Leopold**, Die gelbe Stachelbeer-Blattwespe (*Nematus ribesii* Scop.) (Der Obstzüchter. 1914. No. 6. 4 p. 2 Fig.)
- Garino-Canina, E.**, Influence des traitements sur la germination du pollen des vignes. (Nancy, Impr. Berger-Levrault. 1913. 20 p. 8°. aus; Ann. de la science agron. franç. et étrang.)
- Gaßner, G. u. C. Grimme**, Beiträge zur Frage der Frosthärte der Getreidepflanzen. (Ber. d. D. Bot. Gesellschaft 1913, Bd. 31. H. 8. S. 507—516.)
- Gay, A.**, L'Altice (puceron, puce de la vigne, bleuette). (Rev. de viticult. Année 21. 1914. No. 1064. p. 522—523.)
- Harter, L. L. u. Field, E. u. C.**, Die Welkekrankheit oder Stengelfäule der Süßkartoffel (*Ipomoea batatas* Poir.). (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. 24. 1914. H. 4. p. 204—206.)
- Hecke, Ludwig**, Versuche über die Biologie des Malvenrostes [*Puccinia Malvacearum* Mont.]. (Mitt. d. Idw. Lehrkanzeln d. Hochschule f. Bodenkultur Wien. 1914. Bd. 2, H. 3, S. 455—466.)
- Hiltner, L.**, Beobachtungen und Untersuchungen über die sogen. Dörrfleckenkrankheit des Hafers (Hafersucht). (Prakt. Blätter f. Pflanzenbau- u. Pflanzenschutz 1914. H. 3/4. p. 28—41. 1 Abbild.)
- Himmelbaur, Wolfgang**, Beiträge zur Pathologie der Drogenpflanzen. II. Eine Schwächung u. darauffolgende Erkrankung von Mentha-Kulturen. [Mit 2 Photographien u. 8 Zeichnungen.] (Zeitschr. f. d. landw. Vers.-Wesen i. Österr. 1914. H. 3/4. p. 119—128.)
- Jordan**, Über das Auftreten von *Dactylopius vitis* Niedelsky. (Weinbau d. Rheinpfalz. Jg. 2. 1914. No. 13. p. 141.)
- Köck, G., und Kornauth, K.**, Studien über die Blattrollkrankheit der Kartoffel (Versuchsergebnisse des Jahres 1913.) Wien, Frick, 1914. 32 p. 8°. (Aus: Zeitschr. f. d. landw. Versuchswesen in Österreich. 1914, H. 5.)
- , Anbauversuche mit einigen neueren Kartoffelsorten Dolkowskyscher Züchtung. (Österr.-Ung. Zeitschr. f. Zuckerindustrie u. Landw. d. Zentralver. f. d. Rübenzuckerind. Österr. Jg. 42. 1914. H. 2. 5 p.)
- Krankheiten und Beschädigungen der Kulturpflanzen im Jahre 1911** nebst einem zusammenfassenden Bericht über Ergebnisse des Beobachtungsdienstes. Zusammengestellt in d. kais. biol. Anstalt f. Land- u. Forstw. VIII, 339 p. Lex. 8. Berlin, Parey, 1914. (Ber. über Landw., herausgeg. v. Reichsamt d. Innern. H. 30.)
- Kühn, Othmar**, Vom Hopfenerdfloh. (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrik. Jahrg. 42. 1913. No. 19. p. 196—197.)
- Lüstner, Gustav**, Weinbergsunkräuter. (Mitt. üb. Weinbau u. Kellerwirtsch. Jg. 26. 1914. No. 6. p. 88—91. 2 Fig.)
- Malaquin, A. et Moitié, A.**, Les hyménoptères parasites de l'Aphis evonymi Fb. (Puceron noir de la betterave.) (Compt. rend. soc. biol. T. 76. 1914. No. 16. p. 803—805.)
- Martin, J. B.**, Utilité du papillonnage contre la Cochylys et l'Eudémis. (Rev. de viticult. Année 21. 1914. No. 1064. p. 505—508.)
- Meissner**, Die Bedeutung der Blatt-Tätigkeit der Reben unter besonderer Berücksichtigung der Schädlingsbekämpfung. (Der Weinbau. Jg. 1913/14 No. 6. p. 91—94.)
- Morstatt, H.**, Kaffeekultur, Kaffeeschädlinge und andere schädliche Insekten im Bezirk Bukoba. (Der Pflanze. 1914. No. 3. p. 133—144.)
- Münch**, Hitzeschäden an Waldpflanzen. (Naturwiss. Zeitschr. f. Forst- u. Landw. 1914, No. 4, S. 169—188.)
- Neues über die Bekämpfung der Blattfallkrankheit (*Peronospora*) der Reben. (Mitt. üb. Weinbau u. Kellerwirtsch. Jg. 26. 1914. No. 6. p. 86—88. (Bd. landw. Wochenbl.))
- Rapaics, R.**, Phytopathologische Beobachtungen in Debrecen (Ungarn). (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. 24. 1914. H. 4. p. 211—218.)
- Reh**, Arbeiten über tropische Pflanzenschädlinge. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. 24. 1914. H. 3. p. 149—151.)
- Slawkowsky, Wilh.**, Die Hopfenblattlaus u. ihre Bekämpfung. (Aus: Wochenschr. f. Brauerei. 5 p. 32,5 × 25 cm. Wien, W. Frick 1914. —, 60 Mk.)
- Sorauer, Paul**, Untersuchungen über Gummifluß und Frostwirkungen bei Kirschbäumen. III. Prüfung der Wundreiztheorie. (Landw. Jahrb. Bd. 46. 1914. H. 2. p. 253—272, mit Taf. I u. II.)
- Sorauer, Paul**, Unsere Baumschwämme. [Mit 6 Abb.] (Des prakt. Ratgeber im Obst- u. Gartenbau. 1914. No. 19. S. 177—180.)
- von Stockert, Kurt R. und Zellner, Julius**, Chemische Untersuchungen an Pflanzengallen. (Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 90. 1914. H. 6. p. 495—501.)
- Theobald, F. V.**, Notes on the green spruce Aphis [*Aphis abietina* Walker]. Ann. of. applied biol. Vol. 1. 1914. No. 1. p. 22—26. 10 Fig.)

- Toepffer, Adolf**, Über die Kätzchengalle von *Salix reticulata* und eine andere Galle auf Weiden. (Österr. bot. Zeitschr. Jg. 63. 1913. No. 5. p. 200—203. 6 Fig.)
- Tubenf, C. v.**, Erkrankungen durch Luftabschluß und Überhitzung. (Naturwiss. Zeitschr. f. Forst- u. Landw., 1914. H. 2. S. 67—88. H. 4. S. 161—168.)
- Wahl, Bruno**, Schnakenlarven als Pflanzenschädlinge. (Mitt. d. k. k. Pflanzenschutzstation in Wien, Trunnerstr. 1. 4 p.; Ztschr. f. Moorkultur u. Torfverwertung. 1914. H. 1/2. p. 66—70, 4 Fig.)
- Wahl**, Die Getreideblumenfliege (*Hylemyia coarctata* Fall.) [Mit 2 Abbildgn.] (Zeitschr. f. d. landw. Vers.-Wesen i. Österr. 1914. H. 3/4. S. 185—189.)
- Wahl, Bruno**, Die Getreideblumenfliege (*Hylemyia coarctata* Fall.) (Mitt. d. K. K. Pflanzenschutzstation Wien, Trunnerstr. 1. 4 p. 2 Fig.)
- , Die Getreideblumenfliege (*Hylemyia coarctata* Fall.) [Mit 2 Abbildgn.] (Monatshefte f. Landwirtschaft. 1914. H. 3/4. S. 82—85.)
- Wallace, Errett**, Scab disease of apples. [Mit Taf. u. Abbildgn. im Text]. (Cornell univ. agric. exper. stat. of the coll. of agric. Dep. of plant pathology. 1913. Bull. 335. p. 545—624.)
- Warcollier**, Contribution à l'étude d'une maladie des cidres appelée „verdissement“. (Compt. rend. Acad. Sc. T. 158. 1914. No. 13. p. 793—976.)
- Winkelmann, H.**, Die Bedeutung der Dissipator- (Gitter-) Schornsteine für die Vegetation. (Die Naturwissenschaften. 1914. No. 10. p. 225—229, 2 Fig.)
- Wolf, Frederick A.**, A leaf disease of walnuts. (Mycol. Centralbl. Bd. 4. 1914. H. 2. p. 65—69, 7 Fig.)
- Wolff, Max**, Der Kiefernspanner (*Bupalus piniarius* L.). Versuch einer forstzoolog. Monographie mit Berücksichtigung der bemerkenswerten mit dem Kiefernspanner auftretenden Spannerarten, sowie der vergleichenden Parasitologie der als Kiefernschädlinge wirtschaftlich wichtigen Großschmetterlinge. (Aus d. Abt. f. Pflanzenkr. d. Kais. Wilh.-Inst. f. Landw. in Bromberg.) IV, 290 p. mit Abbild. u. 7 (1 farb.) Taf. 8°. Berlin, J. Springer, 1913. (Beih. zu: „Ztschr. f. Forst- u. Jagdwesen.“) 9. J.
- Zacher, Friedrich**, Die wichtigsten Krankheiten und Schädlinge der tropischen Kulturpflanzen und ihre Bekämpfung. 1. Bd.: Einleitung, allgem. Schädigungen der Kulturpflanzen, Krankheiten und Schädlinge der Baumwollpflanze, des Kakaobaumes, des Teestrauches. VIII, 152 p., mit 58 Abbild. Hamburg, F. W. Thaden, 1914. (Deutsche Tropen-Bibliothek. Bd. 10.) 4. J.
- Zschokke**, Pilzschäden an Reben. (Weinbau d. Rheinpfalz. Jg. 2. 1914. No. 15. p. 161—163.)

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien und Parasiten.

Pflanzenschutz.

- Barker, B. T. P.**, Further observations on the fungicidal action of Bordeaux mixture. (Rep. 83. Meet. British Assoc. Advanc. sc. Birmingham. 1913. p. 767.)
- and **Gimingham, C. T.**, The action of Bordeaux mixture on plants. (Ann. of applied biol. Vol. 1. 1914. No. 1. p. 1—4. 6 Fig.)
- Berg, G.**, Untersuchungsergebnisse über die Zusammensetzung von Kupfervitriolen. (Weinbau d. Rheinpfalz. Jg. 2. 1914. No. 16. p. 175—177.)
- Boß, K.**, Über die Verwendung von Tabakextrakt gegen den Traubenwickler. (Mitt. üb. Weinbau u. Kellerwirtschaft. 1914. No. 5. p. 75—78.)
- Bretschneider, Artur**, Vergleichende Versuche mit einigen Spritzmitteln gegen die Blattfallkrankheit [*Peronospora viticola* D. By] des Weinstockes. (Zeitschr. f. d. landw. Versuchswesen i. Österr., 1914. H. 3/4. S. 106—118.)
- Candidus, A.**, Über Mottenfang [mit Klebfächern] in Rhodt. (Weinbau d. Rheinpfalz. Jg. 2. 1914. No. 14. p. 157—158.)
- Feytaud, J.**, Remarques sur la capture des papillons de *Cochylis* et d'*Eudémis* au moyen des pièges-appâts. (Rev. de viticult. Année 21. 1914. No. 1070. p. 682—685.)
- Gelpke, Walther**, Beiträge zur Unkrautbekämpfung durch chemische Mittel, insbesondere durch Schwefelsäure. Hannover [Schafer] 1914. III, 72 p. 8°. 6 Taf. 2 Mk.
- Haag, Ch. H.**, Vorschläge von Hederichbekämpfungsversuchen. (Illstr. landw. Zeitg. 1914. No. 38. p. 358—360.)
- Kulisch, Paul**, Die Bekämpfung des Heu- und Sauerwurms, insbesondere mit Nikotinbrühen. (Landw. Ztschr. f. Elsaß-Lothringen. 1914. No. 17. p. 369—372.)
- v. Leutz, J.**, Versuche über die Bekämpfung des Ackersenfs mit mechanischen und chemischen Mitteln. (Prakt. Blätter f. Pflanzenbau- u. Pflanzenschutz 1914. H. 3/4. p. 43—46.)
- Lüstner, G.**, Ergebnisse einiger im Sommer 1913 ausgeführter *Peronospora*-, *Oidium*- u.

- Heu- u. Sauerwurm-Bekämpfungsversuche. (Mitt. üb. Weinbau u. Kellerwirtschaft. 1914. Nr. 5. S. 79—82.)
- Mallet, René**, Les bouillies cupriques. (Rev. de viticult. Année 21. 1914. No. 1064. p. 520—522.)
- Mathieu, L.**, L'acide sulfureux liquide en viniculture. (Rev. de viticult. Année 21. 1914. No. 1061. p. 421—428.)
- Milani, A.**, Über Bekämpfungsversuche des Sauerwurmes mittels Schutzhüllen nach D.R. P. 250 053. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. 24. 1914. H. 3 p. 139—148.)
- Neuheiten auf dem Gebiete des Pflanzenschutzes. [5. Mitt.] Hrsg. v. d. K. K. Pflanzenschutzstat. Wien. Trunnerstr. 1. (Zeitschr. f. d. landw. Versuchswesen in Österreich. 1914. p. 309—316.)
- Pfeiffer, F.**, Versuche zur Bekämpfung von Peronospora und Oidium im Jahre 1913. (Hessische Obst-, Wein- u. Gemüse-Ztg., Beil. z. „Hess. landw. Ztschr. 1914. No. 8. p. 39—42. 3 Fig.)
- Schaefer, Albert**, Über Pflanzenschutzmittel. (Der Obstzüchter. 1914. No. 6. 3 p.)
- Schander**, Durch welche Mittel treten wir der Blattrollkrankheit und ähnlichen Kartoffelkrankheiten entgegen? (Fühlings landw. Ztg. 1914. H. 7. p. 225—243.)
- Schander, R.**, Einführung von Musterbeispielen zur Bekämpfung von Pflanzenkrankheiten in den Prov. Posen u. Westpreußen. (Mitt. d. Deutsch. landw. Gesellschaft. 1914. No. 21. S. 294—298.)
- Störmer, K., Ruhland, Kleine u. Spieckermann**, Unkrautbekämpfungsversuche. (Landw. Wochenschr. f. Pommern. 1914. No. 18. S. 189—191; 19. S. 201—202. Illstr. landw. Zeitg. Nr. 36. S. 342.)
- Vermorel et Dantony**, Bouillies mouillantes-adhérentes. (Rev. de viticult. Année 21. 1914. No. 1063. p. 493—494.)
- Weißwange**, Der Kampf gegen die Nonne. Darstellung der großen Nonnenkalamität und der Bekämpfungsmaßnahmen in den Zittauer Stadtförsten 1906—1910. 86 p. mit 20 Abbild. auf 5 Taf. 8°. Neudamm, Neumann, 1914. 3 M.
- Zur Reblausbekämpfung in der Rheinpfalz. (Weinbau d. Rheinpfalz. Jg. 2. 1914. No. 15. p. 165—169.)

Inhalt.

Original-Abhandlungen.

- Cauda, A., und Sangiorgi, G.**, Untersuchungen über die Mikrofauna der Böden aus Reisgegenden, p. 393.
- Gehring, Alfred**, Beiträge zur Kenntnis der Physiologie und Verbreitung denitrifizierender Thiosulfat-Bakterien, p. 402.
- Kellerman, Karl F.**, Micrococci causing red Deterioration of salted Codfish, p. 398.

Pantanelli, E., Elektrolytische Bestimmung der biologischen Bodenaufösungen, p. 439.

Rahn Otto, und Harding, H. A., Die Bemühungen zur einheitlichen Beschreibung der Bakterien in Amerika, p. 385.

Neue Literatur, p. 444.

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagsbuchhandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.

Abgeschlossen am 22. September 1914.

Hofbuchdruckerei Rudolstadt.

Zur Yoghurtkontrolle.

[Aus der Amtl. Milchuntersuchungsstelle der Haupt- und Residenzstadt München. Vorstand: Städtischer Bezirks- und Obertierarzt A. Schneider.]

Von Anton Koegel,

z. Zt. Assistent am Institut für Tierpathologie der Universität München.

Mit 4 Textfiguren.

Allgemeines über Yoghurt, Yoghurtgenuß und -kontrolle.

Im Jahre 1905 veröffentlichte Metchnikoff seine aufsehererregenden „Essays optimistes“ sowie „Quelques remarques sur le lait aigri“. Der Autor bezeichnet darin als Ursache des frühzeitigen Alterns und der Kurzlebigkeit der modernen zivilisierten Menschheit die vom Darmtraktus aus ständig vor sich gehende Intoxikation des ganzen Körpers mit Fäulnisprodukten, für deren Erzeugung er die verschiedensten Mikrobenarten unserer Darmflora verantwortlich machte¹⁾. Zugleich richtete er sein Augenmerk auf die Lebensweise einiger als besonders langlebig bekannter Volksstämme, insonderheit der Bulgaren²⁾, und stellte fest, daß ihre Nahrung größtenteils aus Sauermilch besteht. Es handelt sich dabei nicht um die gewöhnliche saure Milch, wie sie bei uns spontan entsteht, sondern um eine ganz spezifische Abart, den sog. Yoghurt, verursacht durch das Wachstum eines in der gewöhnlichen Sauermilch nicht vorkommenden, in Bulgarien und in einigen Teilen der Türkei aber heimischen *Bacillus bulgaricus*. In den Faeces dieser Menschen, die sich größtenteils, wie schon erwähnt, von Yoghurt ernährten, fehlten die von Metchnikoff beschuldigten Fäulniserreger fast ganz bis vollständig. Dafür enthielten sie in dominierender Stellung eben diesen *Bacillus bulgaricus*. Nun ließ sich gemäß der Metchnikoffschen Theorie das hohe Alter der Bulgaren dadurch erklären, daß man den bei ihrer Ernährungsweise statthabenden Fortfall der Intoxication vom Intestinaltraktus aus geltend machte. In der Tat produziert der *Bacillus bulgaricus* als wesentlichstes Stoffwechselprodukt Milchsäure, die nicht nur nicht giftig ist, sondern sogar auch durch ihre desinfizierenden Eigenschaften das Aufkommen der übrigen (giftigen) Intestinalflora hemmt oder ausschaltet³⁾.

¹⁾ Metchnikoff, Elie, Étude sur la flore intestinale, poisons intestinaux et scléroses. (Annal. de l'inst. Pasteur. T. 24. 1910.) Indolbildner sind *Bacillus coli*, *B. lactis aërogenes*, *B. perfringens*, *B. sporogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus*. Phenolbildner sind *Bacillus paracoli*, *perfringens*, *coli*.

²⁾ Aus statistischen Angaben erhellt (Parlapanoff, Iwan, Jughurt. Leipzig 1912), daß es in Bulgarien bei einer Einwohnerzahl von 4 Millionen 3800 Personen mit einem Alter von über 100 Jahren gibt, in Deutschland dagegen nur ca. 70 unter 61 Millionen.

³⁾ Nach Bertrand, G. und Duchacék, Fr. spielt sich der Stoffwechsel des *Bacillus bulgaricus* folgendermaßen ab: Durch ein bisher nicht isolierbares Enzym wird Laktose in Glukose und Galaktose hydrolysiert, welche dann in ein Gemisch von links- und rechtsdrehender Milchsäure übergehen, worin die rechtsdrehende vorherrscht. Daneben bildet sich wenig Bernsteinsäure, wenig Essigsäure und sehr wenig Ameisensäure. — In der gleichen Weise gärfähig sind Glukose, Galaktose, Fruktose, Mannose. Nicht gärfähig sind Arabinose, Xylose, Maltose und Saccharose, sowie auch Mannit.

Darauf fußend, erhoffte Metchnikoff die gleichen günstigen Einwirkungen des Yoghurtgenusses auch unter den Vorbedingungen unserer gemischten Ernährungsweise und empfahl die bulgarische Sauermilch als lebensverlängerndes Mittel um so mehr, als er durch eingehende Versuche die absolute Entbehrlichkeit der putriden Darmflora für ihre Beherberger nachweisen konnte.

Im Novemberheft 1912 der Annales de l'institut Pasteur heißt es unter „Sur quelques essais de désintoxication intestinale“ par El. Metchnikoff et Eug. Wollmann: La conclusion s'impose donc, que les vertébrés supérieurs et inférieurs ainsi que les invertébrés peuvent très bien se passer du concours des microbes pour leur développement normale et que même les individus nouvellement éclos chez lesquelles on avait le droit de supposer l'insuffisance des ferments digestifs peuvent se contenter de leurs propres sucs digestifs pour les besoins de leur nutrition.“

Seit dieser Zeit datiert auch bei uns im westlichen Europa die allgemeine Verbreitung des Yoghurtgenusses. Daran änderte eine weitere Beobachtung, die Metchnikoff später machte, nichts mehr, daß nämlich eine ständige Ansiedelung des *Bac. bulgaricus* (wie er sie erwartet hatte) in genügender Menge und am rechten Orte, nämlich im Dickdarm nicht stattfindet, weil eine der wesentlichsten Existenzbedingungen an dieser Stelle nicht geboten ist, nämlich Zucker, ein Mangel, dem auch durch Zuführung von Zucker in der Nahrung nicht abzuhelfen ist.

(Berthelot: Compt. rend. de la soc. de Biol. 8. janvier 1910: Ce n'est point aisé de les [les matières sucrées] faire parvenir dans les régions profondes du tube digestif, telles que l'iléon, le caecum et le colon. Il est bien établi, que les sucres se résorbent si facilement dans l'estomac et dans les parties supérieures de l'intestin grêle, qu'il n'en passe rien où presque rien dans les parties plus profondes.“)

1912 veröffentlichte der Mitarbeiter Metchnikoffs Dr. Eugen Wollmann die Entdeckung zweier Mikroben, die mider hier besonders wichtigen Fähigkeit begabt sind, die Stärke in Zucker zu verwandeln. Die Arbeit betitelt sich „Recherches sur les microbes amylolytiques de l'intestin“ (Ann. d. l'institut Pasteur) und enthält folgenden zusammenfassenden Satz: „Il semble par conséquent, que ces microbes soient des véritables ferments producteurs de sucre, dont il n'utilisent qu'une très petite partie pour leur propre compte. On peut en basant sur ces propriétés de former du sucre donner à ces microbes le nom de *Glycobacter*: j'en distinguerai deux types: le *Glycobacter peptolyticus* et le *Glycobacter proteolyticus*.“ Diese Entdeckung ermöglicht es, durch gleichzeitige Verabreichung von Kulturen der erwähnten Mikroben mit Yoghurt dem *Bac. bulgaricus* den erforderlichen Zucker zuzuführen, ihm also im Dickdarm annehmbare Lebensbedingungen zu verschaffen. Dadurch wurde das Interesse (das bereits begonnen hatte abzunehmen) an der bulgarischen Sauermilch mit Recht von neuem gesteigert, um so mehr als sich auch auf anderen Gebieten das Präparat als wohlverwendbar erwiesen hatte. Abgesehen von seinen allgemein anerkannten ausgezeichneten Qualitäten als Nahrungs- und Genußmittel¹⁾.

¹⁾ Die chemische Zusammensetzung des Yoghurts im Vergleich mit anderen Milchnahrungsmitteln nach Parlapanoff.

Fortsetzung der Note auf p. 451.

Reinkulturen des *Bac. bulgaricus* wurden unter Beigabe steriler Milchzuckerlösungen sowohl, als auch gelegentlich ohne diese mit Erfolg in eitrig oder sonstwie infizierte Körperteile gebracht, wo sie unter Entfaltung ihrer bakteriziden Tätigkeit angeblich gute Dienste leisteten, so bei Infektionen der Scheide der Gebärmutter, des Pharynx, der Nasenhöhlen usw.

In der Novembernummer der Pasteurannalen 1912 erwähnt *Metchnikoff*: „*Brindeau* (Archive mensuelle d'obstétrique et de Gynécologie 3. mars 1912) a publié récemment un travail détaillé sur 95 cas de traitement d'infections puerpérales avec des cultures pures de ferment bulgare additionné de lactose stérile. — Depuis 1908 *Fournier* emploie avec succès le bacille bulgare dans le traitement des infections du pharynx et du fosses nasales.“

Martinet berichtet (Presse medicale) von einer Besserung der Symptome bei Magenkrebs.

Brochet berichtet begeistert von seinen Heilerfolgen bei allerlei tropischen Darmerkrankungen, sowie auch bei Furunkulose (Sonderdruck versandt durch die Gesellschaft „Le ferment“ Paris, Rue Deufert-Rochereau).

Berthelot (c. r. d. l. soc. d. Biol. 8 janvier 1910) versuchte sogar die Anwendung von *Bulgaricus*kulturen gegen Typhus und Paratyphus, kam aber nicht zum gewünschten Erfolg, wegen der schon vorerwähnten, damals noch unüberwindlichen Schwierigkeit der Zuckerzufuhr zum Dickdarm. Eventuell bieten sich jetzt nach dem Bekanntwerden der amyolytischen Mikroben auch nach dieser Richtung wieder neue, vielversprechende Anwendungsmöglichkeiten.

Yoghurt ist also eine Sauermilch bulgarischen (besser orientalischen) Ursprungs. Bereitet wird sie aus Ziegen-, Schaf-, Pferde- und Esels-, seltener Rinder- oder Büffelmilch. Ihre Gerinnungsweise ist in erster Linie bedingt durch das Überwachstum des sog. *Bac. bulgaricus* und in zweiter durch die Mitwirkung eines *Diplostreptococcus*. Dazu kommen natürlich verschiedene Begleitmikroben (Hefen). Naheverwandte¹⁾ Sauermilcharten sind das ägyptische „Leben Raib“, das sardinische „Gioddu“ und das kaukasische „Mazun“. Bakteriologisch ferner stehen die Gerinnungstypen der gewöhnlichen Sauermilch, des Kefirs, des Kumys usw.

Was ich von meinen bulgarischen Bekannten über die Bereitung des Yoghurts in ihrer Heimat erfahren konnte, ist folgendes: Man gibt etwa

Zu ¹⁾ auf p. 450.	Gewöhnliche Kuhmilch	Sauermilch	Kefir	Yoghurt
Eiweiß	3,5 %	3,55 %	3,26 %	7,1 %
Fett	3,4	3,7	3,1	7,2
Milchzucker . .	4,6	4,5	2,78	8,3—9,4
Salze	0,75	0,71	0,79	1,38
Milchsäure . . .	—	0,6	0,8	0,8
Wasser	87,5	87,17	88,5	73,7
Alkohol	—	—	0,7	0,02

¹⁾ Manche Autoren, so *S. Makrinoff*, *Löhnis*, *Kuntze* vertreten die Ansicht, daß der Erreger der drei Sauermilchen des Yoghurts, des Leben Raibs und des Mazuns ein und dasselbe Milchsäurebakterium ist. *Makrinoff* schreibt (Centralbl. f. Bakt. Abt. II): Auf Grund alles oben Angeführten kommen wir zu dem Schluß, daß der *Bac. acidilactis* von *Leichmann* der *Streptobac. lebenis* von *Rist* und *Khoury*, der *Bac. bulg.*, das *Bact. Mazun*, der *Körnchenbacillus* alles verschiedene Benennungen eines und desselben Mikroorganismus sind. *Löhnis* schlägt den gemeinsamen Namen *Bact. caucasicum* vor.

einen Eslöffel Yoghurtrest vom vorigen Tage auf einen Liter vorher bis aufs halbe Volumen durch Kochen eingedickter Milch, welche eine Temperatur von ca. 50° hat, rührt alles gründlich um, umhüllt sodann das Gefäß mit schlechten Wärmeleitern (Tüchern, Fellen) so daß sich die Milch längere Zeit annähernd auf ihrer Temperaturhöhe halten kann und läßt es so einige Stunden ruhig stehen. Nach dieser Zeit ist der Inhalt gleichmäßig gelatineartig und ohne Serumausscheidung geronnen und wird vor dem Genusse noch zum Abkühlen in einen Topf mit kaltem Wasser gestellt, um alsdann event. noch mit verschiedenen Zutaten (geriebenem Brote usw.) versetzt zu werden. Für den Fall, daß einmal das Ferment in Gestalt des erwähnten Yorghurtrestes vom vorigen Tage nicht zur Verfügung stehen sollte, hilft sich der Bulgare dadurch, daß er in die wie oben geschildert vor- und fortbehandelte Milch grüne Pflaumen oder Sauerteig¹⁾, oder ein bestimmtes Kräutlein (über dessen Art ich leider keinen Aufschluß erhalten konnte) gibt, welche Substanzen ihm angeblich den gleichen Dienst erweisen, wie sein reguläres Ferment, der Yoghurtrest. L ö h n i s und K u n t z e berichten auch noch, daß die Milchgerinnung aus dem Labmagen frisch geschlachteter Säuglammern und Zicklein in gleicher Weise und mit gleich günstigem Erfolge benützt werden. Meine bulgarischen Bekannten wußten indes davon nichts zu berichten. Auf alle Fälle ist der *Bacillus bulgaricus* in seiner Heimat außerordentlich weit verbreitet, event. sogar ubiquitär. Untersuchungen über diese Frage scheinen noch nicht angestellt worden zu sein. Jedenfalls ist mir nichts diesbezügliches bekannt geworden. In Deutschland hat man zu verschiedenen Malen in Luft, Wasser, Erde, Tier- und Menschenkot, sowie in Milch nach ihm gesucht, allerdings mit absolut negativem Erfolge (L u e r s s e n und K ü h n - O e h l e r).

Also liegen bei uns die Vorbedingungen für die Erzeugung guter Yoghurtmilch nicht so günstig und der Laie bleibt so ziemlich immer auf das kritiklose Hinnehmen von Präparaten angewiesen, die durch Privatlaboratorien vertrieben werden. Diese Anstalten liefern dem Publikum Yoghurt in zweierlei Weise: entweder genußfertige Yoghurtmilch, oder verschiedene Fabrikate, die als Fermente dem Käufer die Möglichkeit in die Hand geben sollen, bulgarische Sauermilch selbst zu bereiten. Zu dieser zweiten Sorte gehört die sog. Maja und die Lactobacilline M e t c h n i k o f f s (das sind in ihrem Wassergehalt eingeeengte und deshalb bequemer transportable Yoghurtreste) sowie die verschiedenen Tabletten und Pulver.

An dieser Stelle ist auch des mancherorts in Laienhänden zirkulierenden sog. Yoghurtpilzes Erwähnung zu tun. Mir zur Ansicht vorgelegte Exemplare erwiesen sich als brombeer- oder blumenkohlartige Gebilde von Hasel- bis Walnußgröße, milchig transparenter Farbe und bei geeigneter Behandlung rasch fortschreitendem Wachstum. H u g o B e r g schreibt in seiner Dissertation über den *Bac. bulgaricus*, Hannover, 1913: „Der Yoghurtpilz ist ein mit anderen Bakterien verunreinigtes festes Gebilde, das eine gewisse Ähnlichkeit mit Kefirkörnern hat.“ Über seine Behandlung und Wirkungsweise wurde mir von den Besitzern folgendes angegeben. Man bringt ihn in abgekochte Milch und überläßt diese dann bei einer Temperatur von ca 15° durch mehrere Stunden in einer wohlverschlossenen gelegentlich zu schütteln-

¹⁾ In einer Arbeit von P s. H e i n e m a n n und M a r y H e f f e r a n wird behauptet, der *Bac. bulgaricus* sei identisch mit dem *Bac. panis fermentati* und überhaupt ubiquitär. Diese den allgemeinen diesbezüglichen Anschauungen diametral gegenüberstehenden Behauptungen waren registriert in einem kurzen Referat. des Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 45. Ref. p. 142.

den Flasche sich selbst. Nach dieser Zeit wird der Pilz dem nunmehr fertigen „Yoghurt“ entnommen und in Wasser gewaschen, um dann seinen Dienst von neuem zu versehen.

Die Temperatur von 15°, eine Geschmacksprobe des fertigen „Yoghurts“, sowie das kefirkörnerartige Aussehen des Ferments paßte trefflich zu dem Resultate der von mir angestellten mikroskopischen Untersuchungen, deren Ergebnis lautete: Der sog. Yoghurtpilz ist Kefir und verdankt seinen Namen wahrscheinlich einer laienhaften Verwechslung.

Vergleicht man die bakterielle Zusammensetzung des in Bulgarien bereiteten Yoghurts mit den bei uns unter diesem Namen hergestellten Erzeugnissen, so ergibt sich, daß dieselbe in Bulgarien ungleich konstanter ist als bei uns. Der bulgarische Yoghurt enthält stets seinen eisernen Bestand von in der Überzahl vorhandenem *Bac. bulgaricus*, sowie reichlich Diplostreptokokken (gelegentlich natürlich auch Hefen oder sonstige Begleitbakterien, wie das ja bei der durchaus nicht auf die Gewinnung von Reinkulturen zugeschnittenen Herstellungsart ohne weiteres begreiflich ist). Diese fremden Elemente erlangen aber niemals einen derartigen Einfluß, daß sie im mikroskopischen Bilde besonders auffallen oder Gerinnung und Geschmack des Yoghurt zu verändern imstande sind.

Die bei uns in Verkehr gebrachten, unter der Flagge Yoghurt segelnden Sauer Milchpräparate sind aber leider durchaus nicht so gleichmäßig in der Zusammensetzung. Zugegeben, daß in dem größeren Teile der in genußfertigen Zustande feilgehaltenen Erzeugnisse die bakterielle Zusammensetzung den bekannten Anforderungen entspricht, kann doch nicht geleugnet werden, daß auch von dieser Yoghurtart mitunter Präparate in Verkehr gebracht werden, die alles andere eher sein können, als bulgarische Sauer Milch. Die Fermente vollends — ich prüfte eine größere Anzahl von Majapräparaten und -tabletten — scheinen mindestens zum größeren Teil wertlos zu sein. Die von mir geprüften Erzeugnisse dieser Art erfüllten alle ihren Zweck nicht in der versprochenen Zeit und Weise. Ein Teil derselben enthielt überhaupt keinen *Bac. bulgaricus* in einem andern Teil war er zwar vorhanden, aber in degeneriertem Zustand und nicht mehr fähig, vermittels einmaliger Übertragung in Milch genußfertigen Yoghurt zu erzeugen (diese Serie benötigte Anreicherungsverfahren, vielfache Umzüchtungen, Plattenaussaat usw.). Viele Autoren äußern sich in einer ähnlichen Weise über die Brauchbarkeit dieser Fabrikate, so Oehler (30), Kuntze (20), Klotz und Piorowsky:

Max Klotz schreibt (Centralbl. f. Bakt. Abt. 2. Bd. 21. p. 392): „Es ist mehrfach bereits in der Literatur darauf hingewiesen worden, wie minderwertig die meisten im Handel befindlichen Trockenfermente sind. Ich selbst habe innerhalb des fast einjährigen Zeitraumes unserer Versuche mit Ernährung von Säuglingen durch Yoghurt alle erdenklichen industriellen Yoghurtfermente untersucht und in der Mehrzahl der Fälle die oft erstaunliche Minderwertigkeit der Präparate feststellen können. Nahm man die vom Fabrikanten vorgeschriebenen Fermentmengen, dann erhielt man entweder keinen Yoghurt oder erst nach endloser Bebrütungszeit, stets aber ein Produkt, das mit Yoghurt gar keine weitere Ähnlichkeit hatte. In diesen Fällen ließ sich stets zweierlei konstatieren: 1. Prädominieren der trivialen Milchsäurebildner (Diplokokken, Kettenkokken, Streptobazillen) gegenüber dem *Bac. bulgaricus* und 2. Verunreinigung mit Hefe, Soor und Heubazillen. Oft konnte man Dutzende von Gesichtsfeldern absuchen, bevor man einen

Bac. bulgaricus entdeckte. Diese zeigten sich in den Trockenfermenten überhaupt öfters morphologisch verändert: Dicker, plumper, gewellt, geknickt oft schraubig geformt, häufig kreuz und quer in Nestern verfilzt, im Gegensatz zu den so charakteristischen schönen Linienserien usw. — Ein industrielles Yoghurtferment, das stets gute Mengen von *Bac. bulgaricus* enthielt, ist z. B. das Lactobacilline Metchnikoffs.“

Piorkowsky (Vortrag in der Berliner Med. Gesellsch. v. 13. Nov. 1907): „Die Versuche mit den im Handel befindlichen Präparaten ergaben, daß obige Bazillen nur gelegentlich in dem einen oder anderen Präparate aufzufinden waren. Häufig fehlten sie gänzlich, namentlich in den trockenen Medien, wie deren Zusammensetzung überhaupt sehr variabel war.“

Die aus solchen Tatsachen mühelos abzuleitende Feststellung — ein großer Teil der heutzutage als Yoghurt im Verkehr befindlichen Fabrikate verdient diesen Namen nicht — erzeugt den Wunsch, dem erwähnten Übel abzuhelpen, um so mehr als jetzt gelegentlich von Yoghurt als Säuglingsnahrung (Klotz [17]) die Rede ist und die von seiten der Fabrikanten gemachten Preise durchaus nicht als niedrig zu bezeichnen sind. So sind verschiedene Stimmen laut geworden, welche eine Yoghurtkontrolle forderten oder selbst Entwürfe zu einer solchen veröffentlichten. Bevor ich indes näher hierauf eingehe, muß ich versuchen, die rechtliche Stellung des Konsumenten zum Fabrikanten zu beleuchten.

Das Publikum erwartet vom Yoghurt hauptsächlich zweierlei: 1. Therapeutische Wirkungen (Darmdesintoxikation, Lebensverlängerung), 2. hohen Wert als Nahrungs- und Genußmittel. Dazu kommt natürlich, die flüssigen oder trockenen Fermente betreffend, die selbstverständliche Forderung mit ihnen nach den Angaben des Fabrikanten durch einmalige Übertragung in Milch Yoghurt selbst bereiten zu können.

Diese Erwartungen des Publikums sind nicht etwa willkürlich gebildet, sondern nur eine Folge der von seiten der Fabrikanten verbreiteten Anpreisungen. Da dieselben sich stets auf die Ergebnisse wissenschaftlicher Untersuchungen stützen, so vermögen sie einen Teil ihrer Verantwortlichkeit abzulehnen. Immerhin bleiben sie, wenn auch nicht für die therapeutischen Wirkungen, so doch noch für die Zusammensetzung und den Nährwert ihrer Präparate haftbar, d. h. dieselben müssen so zusammengesetzt sein wie es die wissenschaftliche Bezeichnung Yoghurt fordert. Eine Yoghurtkontrolle hätte sich also mit zwei Hauptaufgaben zu befassen:

1. Untersuchung der bakteriellen,
2. der chemischen Zusammensetzung (Nährstoffgehalt usw.).

Ich beschränke mich hier auf den 1. Teil, den ich zudem für den vor- dringlicheren und wichtigeren halte.

Die Forderungen eines Yoghurtkontrollsystems an den Fabrikanten lassen sich ungefähr so formulieren:

Die fertigen Präparate müssen 1. in überwiegen- dem Wachstum den *Bac. bulgaricus* in lebenskräfti- ger Form enthalten und es soll 2. zwischen der Her- stellung und dem Genuß nur eine so kurze Zeit vergangen sein, daß durch die in der betreffenden Molkerei übliche Aufbewahrungsart der Geschmack des frisch hergestellten Yoghurts nicht durch Über- wachstum von Begleitbakterien (Gasbildnern, Käsebak-

terien, Hefen, Schimmel, Proteolyten usw.) verändert wird. 3. Endlich müssen die als Fermente vertriebenen flüssigen oder trockenen Dauerpräparate nach der von der Fabrik herausgegebenen Gebrauchsanweisung verwendet Yoghurt der obigen Qualitäten erzeugen.

Die praktische Durchführung der Yoghurtkontrolle ist selbstverständlich nur möglich, wenn Gesetze und Verordnungen die Mittel an die Hand geben, den Forderungen den nötigen Nachdruck zu verschaffen. Als gegenwärtig in den Verkehr mit Nahrungsmitteln eingreifende Verordnungen und Gesetze kommen in Betracht das Reichsgesetz vom 14. Mai 1879 betr. den Verkehr mit Nahrungs- und Genußmitteln und Gebrauchsgegenständen, ferner die einschlägigen Landesgesetze und landesrechtlichen Bestimmungen. Die drei hauptsächlich hier in Betracht kommenden Begriffe sind: „Verfälscht“, „verdorben“, „geeignet die menschliche Gesundheit zu schädigen“ (§ 10—14 d. Reichnahrungsmittelges.). Will man auch den Verfälschungsparagraphen nicht in Anwendung gebracht wissen (meines Erachtens kann von einer Verfälschung gesprochen werden, wenn jemand ein Präparat als Yoghurt in den Handel bringt, ohne daß es die Qualitäten des Yoghurt auch in bakterieller Hinsicht enthält — denn mit dem Namen Yoghurt ist eine Warenbezeichnung gewählt, die ganz bestimmte Qualitäten fordert) so finden dem Sinn des Nahrungsmittelgesetzes entsprechend auf alle Fälle für fehlerhaften Yoghurt die Begriffe „verdorben“ oder „gesundheitsschädlich“ je nach der Art der Fehler und der Konsumenten (Säuglingsnahrung, Krankenbehandlung) volle Anwendung, wobei natürlich das Präparat auch die seinem Preise nach zu erwartende Zusammensetzung als Nahrungs- und Genußmittel besitzen muß.

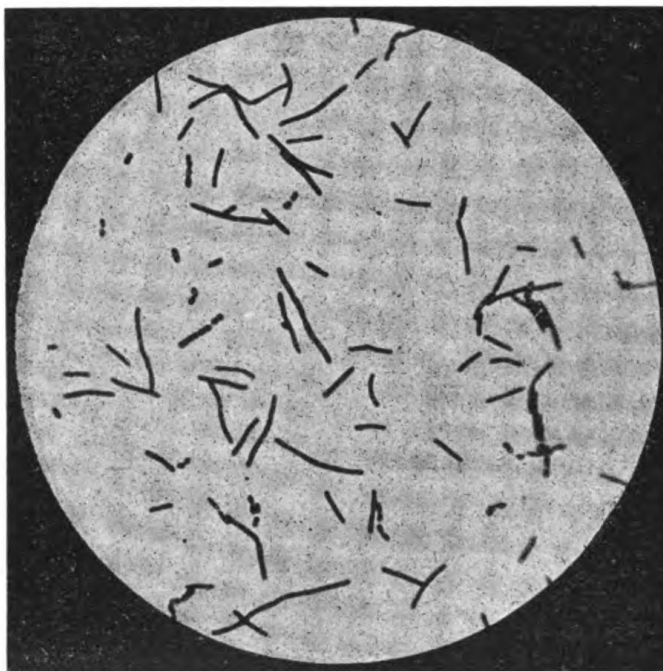
Diejenigen Autoren, welche Vorschläge zur Yoghurtkontrolle gemacht haben (Bokorny in „Der Tag“ v. 23. September 1911; Dr. med. Oehler, Centralbl. f. Bakt. Febr. 2. 1911), haben meines Wissens alle das Schwergewicht ihrer Untersuchungen auf den Nachweis der lebenskräftigen und quantitativ befriedigenden Anwesenheit des *Bac. bulgaricus* gelegt.

Nach Oehler hat sich die Yoghurtkontrolle mit drei Hauptpunkten zu befassen: Gehalt an *Bac. bulgaricus*, Wassergehalt, Säuregrad. Als Mittel zur Arterkennung des *Bac. bulgaricus* empfiehlt er Kultur in Milch bei 40—50°, nach 12—36 Stunden Ausstrichpräparat, das mit verdünntem Kollodium 1 : 20 fixiert wird und 10 Sekunden in Löfflerscher Methylenblaulösung gefärbt wird. Die Yoghurtbakterien zeigen dann immer die arteigentümlichen Rotkörner.

Die Prüfungen aller dieser Autoren wurden vorgenommen (soweit mir bekannt ist) lediglich unter Zuhilfenahme des Mikroskops und züchterischer Maßnahmen. Angeregt durch Herrn Amtstierarzt Dr. W. Ernst unternahm ich es festzustellen, ob und inwieweit eine der modernen serodiagnostischen Methoden der praktischen Yoghurtkontrolle dienstbar gemacht werden kann. Bevor ich indes auf diesen Punkt näher eingehe, halte ich es für nützlich, die im Laufe meiner Vorarbeiten von mir an dem *Bac. bulgaricus* gemachten Beobachtungen biologischer und morphologischer Natur zu registrieren.

Morphologisches und Biologisches.**a) Schilderung meiner eigenen Versuche:**

Ich untersuchte zunächst mikroskopisch eine Anzahl einheimischer und bulgarischer Yoghurtproben, schaltete aus, was mir ungeeignet erschien und begann meine Kulturversuche mit zwei Yoghurtsorten. 1. Mit einem Fabrikat von Dr. Axelrod (s. Fig.) in München, 2. mit einem aus Bulgarien bezogenen Originalferment. Diese beiden Proben enthielten den *Bac. bulgaricus* (und zwar in der nicht schleimig machenden Rasse¹) in gleichmäßig langen (5—7 μ), deutlich gekörnten Stäbchen und in überwiegendem Wachstum neben Diplokokken, Streptokokken usw. Da die beiden Stämme der deutsche und der bulgarische sich fürderhin auch nicht im geringsten von einander unterschieden, unterlasse ich es, sie noch weiterhin gesondert anzuführen.



Dr. Axelrods Yoghurt.

Ich versuchte zunächst eine Aussaat auf Trockennährböden der gewöhnlichen Zusammensetzung, also

1000,0 H₂O
 25,0 Agar
 8,5 NaCl
 20,0 Pepton
 20,0 Liebig.

indem ich vier Petrischalen mit je einer Platinöse der oben erwähnten Yoghurtproben beimpfte, und sie auf die Dauer von 48 Stunden im Brut-

¹) Erwähnen möchte ich gleich an dieser Stelle, daß es mir nie gelang (obwohl ich später mindestens 20 Yoghurtproben verschiedenster Provenienz daraufhin untersuchte), einen Unterschied zwischen zwei *Bulgaricus* rassen zu beobachten, der angeblich darin besteht, daß die eine die Milch schleimig gerinnen macht, die andere aber nicht. Sewerin (37) weist zuerst auf die Existenz dieser zwei Rassen hin. Auch Löhnis (22) unterscheidet zwischen dem *Streptobacillus lebanis* (= *Bac. bulg.*) *viscosus* und *non viscosus*. Desgleichen betont Makrinoff (24) stets die Existenz der erwähnten beiden Unterarten.

schranke einer Temperatur von 45° aussetzte. Nach dieser Zeit waren in den Petrischalen zwar die anderen bazillären Komponenten des Impfmateri als, sowie darin enthaltene Begleitbakterien befriedigend gewachsen (Diplokokken, Streptokokken, Hefen usw.), den *Bac. bulgaricus* aber in irgend einer Wuchsform darin aufzufinden war unmöglich. Wiederholte Versuche ergaben stets das gleiche Resultat, auch nach mehrtätiger Bebrütung, daß eben der *Bac. bulgaricus* auf festen Nährböden der obigen Zusammensetzung keinerlei Wachstum erkennen ließ.

Dies veranlaßte mich in Nachahmung der natürlichen Lebensbedingungen des Mikroben (Milch, Milhzucker) einen Nährboden zu verwenden, etwa von der durch Kuntze empfohlenen Zusammensetzung.

Kuntze, Studien über fermentierte Milch, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 21. empfiehlt: „In 1000 ccm Wasser werden 8 g Milhzucker, sowie 3 g Agar zur Lösung gebracht, darauf 200 ccm Milch und 3 g Pepton Witte hinzugetan und das Ganze in gewöhnlicher Weise an mehreren aufeinanderfolgenden Tagen nicht zu lange sterilisiert. Darauf wird der entstandene Niederschlag durch Watte abfiltriert und die fast glasklare Masse ohne zu neutralisieren abgefüllt.“

Abermals besäte ich wie oben vier Petrischalen. Nach 24 Stunden war in allen vieren der *Bac. bulgaricus* in Form kleinster durchscheinender Pünktchen in geringer Breitenausdehnung entlang den Ösen Spuren gewachsen. Diese nicht ganz gleichgroßen Kolonien maßen nach einer Bebrütungsdauer von 24 Stunden ca. 0,3—1,5 mm im Durchmesser und hatten vergleichsweise das Aussehen feinsten Tautröpfchen. Unter dem Mikroskop betrachtet erwies sich die Form dieser Kolonien verschiedengestaltig, insofern als die kleinsten (Fig. 1) fast vollkommen rund, die mittleren (Fig. 2) ungenau kugelförmig mit vereinzelt Zackenbildungen, die größten (Fig. 3) endlich bereits deutlich am Rande gelockt (medusenhaarförmig) erschienen.



Fig. 1.



Fig. 2.



Fig. 3.

Dieselben Kulturen nach abermaliger 24-stündiger Bebrütung der 2., 3. und 4. Platte (Platte 1 wurde vergleichshalber im Eisschrank aufbewahrt) betrachtet unterschieden sich in ihrem Wachstum von den eben geschilderten makroskopisch durch eine deutliche Größenzunahme (1,8—2,0 mm), wobei die größten bei genauer Betrachtung oft schon mit bloßem Auge eine zackige Kontur erkennen ließen und sich von den kleineren durch ein flacheres, trockneres (vergleichbar etwa mit Ätzstellen auf Glasplatten) und nicht mehr so durchscheinendes Aussehen unterschieden — mikroskopisch ferner dadurch, daß nun alle Kolonien auch die kleinsten, medusenhaarförmig waren. Eine abermalige Prüfung der dritten und vierten Platte nach weiteren 48 Stunden im Brutschrank ergab keine weitere Größenzunahme oder Formveränderung, nur daß jetzt alle Kolonien das oben geschilderte vertrocknete Aussehen hatten. Von da ab blieben auch nach tagelanger Bebrütung der 4. Platte alle Kolonien unverändert. Objektträgerausstriche von den erwähnten drei Wachstumsstadien ergaben folgende Bilder (die Färbung erfolgte mit Löffler schem

Methylenblau): Der Ausstrich von der 24 Stunden bebrüteten Platte enthielt lauter anscheinend fast gleichlange (ca. 4—5 μ) und dicke (ca. 0,5 μ) gleichmäßig und satt tinguierte gerade Stäbchen (bei ganz kurzer Färbezeit und sehr verdünnter Farblösung glaubte ich auch hier polarstehende Körnchen wahrzunehmen). Die Platte, welche 48 Stunden im Brutschrank verbracht hatte, enthielt Stäbchen von etwas ungleichmäßigerer Länge und Dicke, nicht mehr so gerade, starre Formen, gelegentlich solche mit Tendenz sich zu krümmen, vereinzelt besonders an den Stäbchenpolen dunkel-schwarzblaue Körnchen, welche die Längswand des Bazillenschlauches eben noch zu tangieren schienen und also etwa 0,45—0,5 μ im Durchmesser hatten. Platte 3, welche im ganzen 96 Stunden der Bruttemperatur ausgesetzt gewesen war, enthielt Stäbchen von größerer Länge als vorher (7—8 μ), die vielfach an einem der beiden Enden in Gestalt eines einmaligen Spiralenganges involviert waren. Auch waren Formen zu beobachten, bei denen die Enden des Stäbchens kolbig aufgetrieben waren. Die Färbung war trotz der konstant gebliebenen Konzentration der Methylenblaulösung nicht mehr so satt, in manchen Exemplaren ziemlich verwaschen. Die Zahl der Körnchen war so verringert, daß man ihr Auftreten nur mehr als vereinzelt bezeichnen konnte. Platte 4 zeigte bei mehrmaliger Besichtigung nach verschiedenen weiteren Bebrüungsperioden dieselben Qualitäten wie Platte 3.

Um das Wachstum des *Bulgaricus* in Milcheinkulturen zu studieren und zur gleichen Zeit seine Lebensdauer und deren Zusammenhang mit den zuletzt geschilderten Involutionsformen kennen zu lernen, überimpfte ich von jedem der drei (Platte 1, 2, 3 und 4) eben geschilderten Wachstumsstadien je eine Öse in ein Reagensglas hochsterilisierter Milch und brachte die drei Milchproben bei einer Temperatur von 45° auf die Dauer von 24 Stunden im Brutschrank unter. Nach Ablauf dieser Frist ergab die Besichtigung (Notabene: ich bezeichne in folgendem die Probe, welche von Platte 1 geimpft wurde als Milch 1, Platte 2 verursacht Milch 2, während Milch 3 von Platte 3 und 4 angezüchtet wurde) der drei Milchproben:

I. Die drei Milchproben nach 24-stündiger Bebrütung:

Milch 1 zeigt schöne gleichmäßige Yoghurtgerinnung ohne Serumausscheidung. Objektträgerausstriche enthalten mit dem Mikroskop betrachtet, viele gerade, gut tinguierte, körnchentragende, 5—7 μ lange Stäbchen. Die Körnchen standen diesmal nicht nur polar, sondern auch gelegentlich zu mehreren (3—6 in einem Bacillus) über dessen ganzen Längsverlauf hin verteilt. In der Mehrzahl der Fälle schien der Durchmesser der Körnchen mit dem Durchmesser des Bazillenschlauches identisch zu sein, das heißt, sie berührten eben noch seine Wände. Ich konnte aber in dieser Kultur auch solche beobachten, die dem Bazillenleib an Dicke nicht so nahe kamen und solche, die ihn darin sogar übertrafen, so daß sie eine Art von Vorwölbung auf einer oder auf beiden Seiten des Stäbchens verursachten.

Milch 2 unterscheidet sich in ihrer Gerinnungsweise in nichts von Milch 1. Im mikroskopischen Ausstrichpräparat enthält sie Stäbchen von meist etwas größerer Länge (bis 10 μ), in denen die großen Körner zahlreicher als vorher enthalten sind. (Ich bezeichne Körner, die den Bakterien Schlauch noch nicht ausfüllen, als kleine, solche, die dies tun, als mittlere, und solche endlich, die ihn auf einer oder auf beiden Seiten vorwölben, als große Körner.)

Milch 3 ist nicht geronnen und zeigt im Mikroskop kein Bakterienwachstum.

II. Die drei Milchproben nach 72-stündiger Bebrütung:

Milch 1: Ihre Gerinnung ist unverändert; die Bazillen sind viel länger (10—20 μ) und ziemlich flau tinguiert. Der Verlauf dieser Bazillenfäden ist vielfach gebogen und von wechselndem Durchmesser (0,5—1,0 μ). Die Zahl der Körnchen ist zwar geringer geworden, doch ähnelt die Art ihres Auftretens immer noch dem in Milch 1 nach 24-stündiger Bebrütung beobachteten.

Milch 2: ist auch in ihrer Gerinnungsweise unverändert geblieben und enthält noch längere (bis 30 μ) und noch vielfältiger gewundene Formen wie 1. Die Körnelung der Fäden hat an Zahl bedeutend abgenommen. Ihre Art ist aber ebenfalls die gleiche geblieben.

Milch 3 ist immer noch ungeronnen und ohne Bazillenwachstum.

III. Die drei Milchproben nach 120-stündiger Bebrütung:

Milch 1: Sie ist in ihrer Gerinnungsweise immer noch unverändert geblieben, enthält Bazillenfäden bis zu 30 μ Länge, die gelegentlich an den Enden ausgefranst sind und manchmal ungefärbte Partien aufweisen. Körner enthalten sie nicht mehr.

Milch 2 unterscheidet sich jetzt in nichts mehr von Milch 1.

Milch 3 ist immer noch unverändert.

Weitere Überimpfungen von den drei beschriebenen Bebrütungsstadien der beiden geronnenen Milchen 1 und 2 (unter Beseitigung der nicht geronnenen und keine lebenden *Bulgarici* enthaltenden Milch 3) in neue sterile Milchproben ergab bei Überimpfung

aus I. Nach 24-stündiger Bebrütung:

Milch 1 zeigt schöne homogene Yoghurtgerinnung, die sich in ihrem gesunden Aussehen, sowie auch sonst in nichts von dem des Impfmateri als unterscheidet.

Milch 2 verhält sich in allen Dingen wie Milch 1.

Aus II. Nach 24-stündiger Bebrütung:

Milch 1: Die Milchprobe ist noch nicht geronnen. Dies erfolgt erst nach weiteren 10 Stunden Bebrütung. Das Aussehen der darin enthaltenen *Bulgarici* glied dem in I.

Milch 2 verhält sich durchwegs wie Milch 1.

Aus III. Nach 24-stündiger Bebrütung:

Milch 1 ist nicht geronnen und gerinnt auch in vielen Tagen nicht. Sie enthält kein Bazillenwachstum.

Milch 2 verhält sich wie Milch 1.

Im Gegensatz zu dem Verhalten dieser im Brutschrank aufbewahrten Kulturen stand das derjenigen *Bulgaricus*-Yoghurtproben, die bald nach Vollendung des Gerinnungsvorganges in Eisschrank- oder Zimmertemperatur verbracht wurden. Dieselben zeigten unter diesen Verhältnissen keinerlei weiteres Wachstum, außer daß sie gelegentlich reichlich Körnchen bildeten und blieben lebenskräftig (nach meinen Beobachtungen bis 6 Wochen, d. h. man konnte mit ihnen auch nach dieser relativ langen Zeit rasch und sicher Umzüchtungen vornehmen). Zu betonen ist noch, daß die Zimmer- und Eisschrankkulturen diese Eigenschaft natürlich nur dann in so vollkommenem Grade besaßen, wenn sie im Moment des Verbringens in kühlere Temperatur noch vollkommen intakt, das heißt nicht länger als 10 μ , nicht schlecht tingierbar, nicht involviert oder stark gekrümmt oder sonstwie degeneriert waren.

Zuchtversuche im Schrägagar verliefen analog denen auf Platten. Zu erwähnen sind Beobachtungen im Kondenswasser, das durch einen hellen, flockigen Bodensatz ausgezeichnet war. Eine Untersuchung dieses Bodensatzes unter dem Mikroskop ließ erkennen, daß derselbe keineswegs, wie ich vermutet hatte, üppiges Bakterienwachstum darstellte, sondern vielmehr in seinem allergrößten Teile amorphe (Eiweiß-?) Gerinnsel, die nur ganz wenige, etwas längere (7—8 μ als die aus den Schrägflächen gewachsenen Bazillen) und körnchenträgende Stäbchen beherbergten. Die Lebensdauer des *Bac. bulgaricus* auf Schrägagar war gleich der auf Platten beobachteten, mit dem geringfügigen Unterschied, daß die Kondenswasserbakterien sich etwas länger zu halten schienen. Die auf Schrägagar degenerierenden Bacillen wiesen die gleichen morphologischen Merkmale auf, wie die Platten.

Auch in Agarstichkulturen wuchs der *Bac. bulgaricus* ohne besondere Schwierigkeiten, und zwar war das Wachstum, das sich nach ca. 24 Stunden bemerkbar machte, an der Einstichstelle ähnlich dem auf Platten und Schrägagar beobachteten, während das Tiefenwachstum entlang dem Verlaufe des Stichkanals das Aussehen von wolkigen, ungleichmäßig in die Breite ausgedehnten Trübungen besaß. Die Form der so gewachsenen Bazillen glich ganz der von der Platte und dem Schrägagar her bekannten. Ebenso wie auf diesen letztgenannten Nährböden zeigten die *Bulgarici* auch in Agarstich eine rasche Degeneration (Involution) und geringe Lebensfähigkeit (4—5 Tage).

Schon die Vorgänge im Kondenswasser des Schrägagars mußten dazu anregen, sich über das Wachstum des *Bulgaricus* in Bouillon zu orientieren. Ich stellte mir viererlei Arten von Bouillon her.

1. Fleischwasser-Bouillon,
2. Pepton(2-proz.)-Bouillon,
3. Laktose(6-proz.)-Bouillon,
4. Misch-Bouillon 1000 H₂O
 25 Liebig
 30 Pepton
 60 Laktose.

Von jeder dieser vier Bouillonarten füllte ich in ein großes Reagenzglas von ca. 3 cm Durchmesser die Flüssigkeit in einer Höhe von ca. 5 cm, beimpfte dann jedes Glas mit einer Öse 24 Stunden alter Plattenkultur und setzte es 24 Stunden lang einer Brutschranktemperatur von 45° aus.

I. Die 4 Proben nach 24 Stunden:

Bouillon 1 zeigt Wachstum weder makroskopisch, noch mikroskopisch.

Bouillon 2 zeigt ebenfalls keinerlei Wachstum.

Bouillon 3 enthält eine leichte wolkige Trübung und einen geringfügigen, schwer aufwirbelbaren, die Kuppe des Reagenzglases etwa kleinlinsengroß bedeckenden Bodensatz. Mikroskopisch betrachtet enthält die getrübt Bouillon ziemlich reichlich mittellange (7—10 μ), gut tinguierte Stäbchen mit wenig mittleren Körnern, der Bodensatz jedoch fast nur amorphe Substanzen und wenige, etwas kürzere *Bulgarici*.

Bouillon 4: Die Bouillon ist viel stärker getrübt als in 3 und enthält einen mindestens doppelt so starken Bodensatz. Mikroskopisch lassen sich zwischen den in 3 und den in 4 enthaltenen Bazillen keinerlei Unterschiede konstatieren.

II. Die 4 Proben nach weiteren 48 Stunden:

Bouillon 1 und 2 zeigen immer noch keinerlei Wachstum.

Bouillon 3: Die wellige Trübung der Flüssigkeit ist etwas verstärkt. Eine wesentliche Vermehrung des Bodensatzes indes nicht wahrnehmbar. Die Flüssigkeit enthält den *Bac. bulgaricus* in sehr langen (30—40 μ), ja oft sogar in über den Bereich des Gesichtsfeldes hinausreichenden Fäden, mit ziemlicher flauer Tinguierung, unregelmäßigen Dickenverhältnissen und nur vereinzelt schlecht erkennbaren Körnern.

Bouillon 4 hat sich in ihrem flüssigen Teil ebenfalls noch stärker getrübt und enthält einen bedeutend vermehrten (ca. 2 ccm) Bodensatz. Die darin enthaltenen *Bulgarici* bildeten keine so langen Fäden (etwa 20—30 μ), waren von gleichmäßigerer Dicke, besser tinguiert und etwas körnchenreicher.

III. Die 4 Proben nach 2 weiteren Tagen:

Bouillon 1 und 2 ist noch immer wie vor der Beimpfung.

Bouillon 3 hat sich in ihrem flüssigen Teil vollkommen geklärt. Der Bodensatz hat an Durchmesser sich dergestalt vergrößert, daß er etwa als großlinsenförmig bezeichnet werden könnte. Mikroskopische Präparate aus der Flüssigkeit entnommen enthalten keine Bakterien. Im Bodensatz machen sich sonderbare körnchenlose, ca. 6—8 μ lange *Bulgarici* bemerkbar, deren Aussehen man am besten als gestreckt-rauten- oder spindelförmig bezeichnen könnte, d. h. ihre Enden sind deutlich zugespitzt, während sie ihre größte Breitenausdehnung in der Mitte haben.

Bouillon 4 hat sich ebenfalls geklärt, nur ist hier der Bodensatz viel imponierender geworden (ca. 3 ccm). Der mikroskopische Befund entspricht dem in 3 beobachteten, nur daß der Bodensatz neben den Spindelformen hier noch reichlich größere Fragmente der ehemaligen Fäden aufwies. Spindelformen auf andere Nährböden verbracht, ergaben niemals, auch nicht nach sehr langer Bebrütungszeit, wieder lebenskräftige Kulturen, während die langen Bouillonfäden, besonders wenn ihre Tinguierbarkeit noch einigermaßen befriedigte, sich gelegentlich nach wiederholter Übertragung, besonders in Milch, wieder regenerierten.

Nährböden, die anstatt mit Laktose mit Traubenzucker versetzt waren, ließen vor den milchzuckerhaltigen keinerlei Vorzüge erscheinen. Ebenso erzielte ich keine Wachstumsförderung durch Anwendung von sauren Bierwürzenährböden. Eine Zugabe von Nutrose zu den milchzuckerhaltigen Nährböden schien mir stets förderlich zu sein. Bouillon und Agar von mir unter anaëroben Verhältnissen geimpft, ergab kein Wachstum, allerdings mag daran zum Teil die Methode schuld sein. In Ermangelung der modernen Apparate nämlich, welche zur anaëroben Züchtung benützt werden, mußte ich mich mit dem alten Verfahren nach **Buchner-Salomonson** behelfen. Das beimpfte Reagenzglas, das bis zu $\frac{1}{5}$ seiner Höhe mit dem Nährboden gefüllt war, wurde ungefähr in halber Höhe durch einen mit Pyrogallussäurelösung + Alkali getränkten Wattepfropf und oben an der Öffnung mit einem gut schließenden, mit Paraffin umgossenen Gummipfropfen verschlossen. Schließlich suchte ich noch eine Beobachtung experimentell zu stützen, die ich bei der Weiterzucht meiner Stammilchkulturen gemacht hatte, daß nämlich der *Bac. bulgaricus* sich viel persistenter allen Einflüssen gegenüber und viel weniger geneigt zur Degeneration zeigte, bei Anwesenheit der sonstigen gewöhnlichen Yoghurtflora. Ich gewann also Kochextrakte aus Yoghurtmilch, die außer dem *Bac. bulgaricus* noch den Yoghurt-*Diplostreptococcus* und ev. Begleitbakterien (Hefen) enthielten, sowie aus Reinkulturen des Yoghurt-*Diplostreptococcus* und setzte dieselben den optimalen Nährböden zu in der Hoffnung, sie möchten vielleicht als Ersatz der natürlichen Verhältnisse das Wachstum und die Lebensfähigkeit des *Bac. bulgaricus* günstig beeinflussen. Doch wurden diese Mutmaßungen nicht durch den Effekt gerechtfertigt. Allerdings bleibt zu bedenken, daß den Extrakten, die in Ermangelung von Schüttelapparaten usw. lediglich durch Kochen gewonnen wurden, eben deshalb nur ein sehr bedingter Wert zukommen kann.

Endlich muß ich noch eines Versuches gedenken, zu dessen Anstellung mich einerseits die Nachricht von der Benützung des Labmageninhalts saugender Wiederkäuer in Bulgarien als Ferment zur Yoghurtgewinnung, andererseits die Angabe **Kuntzes** ermunterte, er habe im Labmagen von Sauglämmern und Zicklein einen körnchenträgenden *Bacillus* gefunden, der in seinen wesentlichsten Eigenschaften mit dem *Bac. bulgaricus* übereinstimme. Ich ließ bei geschlachteten Sauglämmern sofort nach der Tötung der Tiere gegen Schlund und Darm hin den Magen fest unterbinden und verfuhr mit seinem solchergestalt leidlich einwandfrei erhaltenen Inhalt wie folgt: 1. Ich untersuchte den Inhalt eines solchen im Laboratorium eröffneten Magens zunächst mit Gramfärbung. Das mikroskopische Bild zeigte überwiegend grampositive Kokken und nur vereinzelte grampositive Stäbchen. Mit Methylenblau wurde ein stärkeres Kontingent von Stäbchen erkennbar, von denen manche eine der für den *Bac. bulgaricus* so charakteristischen ähnliche Körnchenbildung aufwiesen. 2. Ich brachte 2 der Magen noch uneröffnet in den Brutschrank, woselbst sie 12 Stunden bei 45° aufgehängt blieben. Nach Ablauf

dieser Zeit war der Inhalt unter ziemlich reichlicher Serumausscheidung labartig geronnen. Im mikroskopischen Bild (Methylenblau) glaubte ich eine, wenn auch nicht gerade imponierende Anreicherung der körnchenhaltigen Stäbchenformen zu erkennen. Nun gab ich einen Teil des Gerinnsels in sterile Milch und brachte die Anordnung wieder in den 45-grad. Brutschrank, nachdem ich zu gleicher Zeit eine Platinöse aus der geronnenen Masse auf Platten überimpft hatte. Mehrmalige Versuche mit der Tendenz einer Isolierung des Körnchenträgers auf festen Nährböden mit und ohne Laktose, blieben aber vollkommen erfolglos. Die angezüchtete Milch war am nächsten Tage prompt geronnen. Die Gerinnung trug zwar nicht den Charakter der typischen Yoghurtgerinnung, d. h. die Milch stellte keine homogene, fast serumlose gelatineartige Masse dar, sondern neben und über größeren Partien yoghurtähnlicher, nicht mehr labartiger Gerinnsel stand eine beträchtliche Menge ausgeschiedenen Serums. Das Mikroskop ließ in einer Probe des 12 Stunden (wie oben bemerkt) bebrüteten Materials diesmal eine deutliche Prominenz in der Quantität der Körnchenträger erkennen. Unter täglicher Überimpfung auf frische Milch und mit dem stets negativ endenden Versuche einer Übertragung auf feste Nährböden konnte ich die Kultur leider nur noch etwa 14 Tage beobachten. Gegen Ende dieser Zeit waren die körnchentragenden Bakterien dermaßen in der Überzahl gewachsen, daß mancher Objektträgerausstrich den Eindruck einer Reinkultur machte. Geruch und Geschmack dieser Milchkulturen unterschied sich jedoch von dem richtigen Yoghurt bedeutend zum Vorteil des letzteren, auch war ihr Säuregrad ein bedeutend höherer (der Säuregrad der durch den *Bac. bulgaricus* geronnen gemachten Milch betrug durchschnittlich 0,76—1,10 auf Milchsäure berechnet, der der Labmagenkulturen dagegen 0,90—1,30).

Zu gleicher Zeit hatte ich auch verschiedentlich versucht, aus Sauerteig Yoghurt zu erzeugen. Doch gelang es mir nie, in den mir zur Verfügung stehenden Proben Bakterien aufzufinden, welche mit dem *Bac. bulgaricus* morphologisch oder biologisch Berührungspunkte geboten hätten.

Ich will nun versuchen, zusammenfassend zu charakterisieren, was mir über Biologie und Morphologie des *Bac. bulgaricus* im Laufe meiner Untersuchungen bekannt geworden ist und wie sich die einschlägige Literatur, soweit sie mir zugänglich war, zu denselben Punkten äußert.

b) Zusammenfassung.

1. Biologie.

Der *Bac. bulgaricus* ist in seiner Heimat weit verbreitet oder ubiquitär (Verwendung der heterogensten Substanzen als Fermente). Im übrigen Europa aber ist er nach den Forschungsergebnissen der meisten Autoren in Erde, Luft, Wasser, Tier- und Menschenkot nicht aufzufinden [Luerssen (23) und Kühn, Oehler (30), Klotz (Centralbl. f. Bakt. Abt. 2. Bd. 21. p. 393: „Zur Bakteriologie des Yoghurts“)]. Kuntze (S. 20) spricht von der Möglichkeit der Einschleppung des *Bacillus* nach Frankreich unter Franz I. (durch einen jüdischen Arzt aus Stambul) und glaubt an das Vorhandensein nahe verwandter oder identischer Arten im Intestinaltraktus von Schafen und anderen Wiederkäuern. Ich selbst fand in den Labmägen von Sauglämmern Bakterien, die morphologisch dem *Bac. bulgaricus* sehr nahe standen, sich aber doch biologisch in manchen Punkten davon unterschieden.

Eine neuere Arbeit endlich, deren wesentlichen Inhalt ich in Gestalt eines Referates in Centralbl. f. Bakt. erfuhr, behauptet der *Bac. bulgaricus* sei ubiquitär, identisch mit dem *Bac. panis fermentati* (die von mir mit Sauerteig angestellten Versuche vermochten nicht diese Angabe zu bestätigen, p. 22) usw. (Heinemann and Mary Hefferan) s. p. 5. Ann.

Verschiedene Autoren unterschieden zwischen zwei Rassen des *Bac. bulgaricus*, einer schleimig machenden und einer nicht schleimig machenden (Severin [37], Makrinoff [24], Löhnis [22] s. p. 11 Anm.). Alle von mir untersuchten Stämme besaßen keine schleimig machenden Eigenschaften. Ferner konstatierte ich, daß der *Bac. bulgaricus* keine Sporen bildet und nicht die Fähigkeit besitzt, Gas zu bilden. Dieselbe Anschauung vertreten auch die mir bekannten übrigen Autoren, nur Luerssen (24) und Kühn sprechen von Sporenbildung, während Piorkowski Gasbildung in Traubenzuckeragar beobachtete.

Im Verlauf meiner Untersuchungen wuchs der *Bac. bulgaricus* nicht auf gewöhnlichen, sondern nur auf zuckerhaltigen Nährböden. Die Mehrzahl der Autoren macht hierüber dieselben Angaben, doch haben Luerssen und Kühn (23) sowie Severin (37) Wachstum auf Glycerinagar, Nähragar und in Bouillon erzielt. Aber selbst diese Autoren bezeichnen das so gewonnene Wachstum als minimal und unbefriedigend.

Bei Luerssen und Kühn (23) ist es übrigens wahrscheinlich, daß der von ihnen als *Bac. bulgaricus* bezeichnete Mikrobe mit dem allgemein darunter verstandenen *Bacillus* nicht identisch ist, was eher von dem Körnchenbacillus der beiden Autoren behauptet werden könnte, der auf zuckerlosen Nährböden sehr schlechtes Wachstum gezeigt hat¹⁾.

Die meisten Forscher gaben den Nährböden diejenige Zuckerart bei, welche in dem natürlichen und bevorzugtesten Nährboden des Mikroben, in der Milch, enthalten ist, nämlich Milchzucker. Hugo Berg, s. p. 6, empfiehlt Traubenzucker als geeigneter. Auf Grund meiner Zuchtversuche mit Traubenzucker kann ich mich dieser Ansicht nicht anschließen.

Die von verschiedenen Seiten [besonders Kuntze (20)] als empfehlenswert bezeichneten saueren Bierwürzenährböden fand ich bei meinen Versuchen unbrauchbar. Vielleicht liegt die Schuld an der Art der Bierwürze (Hopfung). Übrigens gelang es auch Severin (37) nicht, auf seinen Bierwürzenährböden den Mikroben zum Wachstum zu bringen.

Am besten geeignet als Nährsubstrat erscheint mir Milch, und zwar konnte ich der Esels- vor der Kuhmilch keinen Vorzug zuerkennen.

Auf Agaroberflächen wuchs der *Bacillus* in medusenhaarförmigen Kolonien; in Agartiefstich in Form von wolkigen Trübungen entlang dem Stichkanal. Oehler (30) charakterisiert das Plattenwachstum des *Bac. bulgaricus* in seinen Arbeiten über Yoghurtkontrolle folgendermaßen: „Die Artfestlegung des *Bac. bulgaricus* gründet sich hauptsächlich

¹⁾ Makrinoff (24) schreibt: „So wird man sich der Ansicht von Severin anschließen müssen, daß der hier vorgeführte *Bac. bulgaricus* nicht mit dem aus der Literatur bekannten übereinstimmt. . . . weder nach der Form der Kolonien, noch nach dem Wachstum auf Kartoffel, weder nach der optimalen Temperatur, noch nach dem Charakter des von ihm gebildeten Milchgerinnsels, und zieht man noch in Betracht die Eigenschaft des „*Bac. bulgaricus*“ Sporen zu bilden, worauf diese Forscher an anderer Stelle hinweisen, so muß man den Schluß ziehen, daß sie es nicht mit dem *Bac. bulgaricus*, sondern mit irgendeinem anderen Mikroorganismus zu tun hatten.“

auf die flockenähnliche, lockig gewachsene, milzbrandähnliche Oberflächenkultur auf festem Nährboden:“ sowie an anderer Stelle „. . . . denn die ganz festen jungen und in dichtem Gedränge stehenden Kulturen zeigen noch nicht die geflockte Form, sind vielmehr rundlich, körnig, fast glattrandig und wenig eigenartig.“ (S. p. 12 m. Arb.) Severin (37) beschreibt das Plattenwachstum seines nicht schleimig machenden *Bulgaricus*-Stammes in ganz ähnlicher Weise. Auch die Angaben Luerssen (28) und Kühn über die Kolonienformen ihres sog. Körnchenbacillus stimmen mit dem vorigen überein: „Die Kolonien sind lockere und flockige, ganz durchscheinende flache Flocken von $\frac{1}{2}$ —2 mm Durchmesser, viel feiner und kleiner als Milzbrandkolonien.“ Das Wachstum in gewöhnlichen Agarstichkulturen beschreibt Makrinoff (24) als einem „auf die Spitze gestellten Tannenbaum“ vergleichbar, während er den Molkenagarstich ähnlich wie ich als dünn, oft schleierartig, grauweiß, mit Ausbuchtungen und Lappen am Rande charakterisiert.

Allgemein wird betont, daß der *Bac. bulgaricus* fakultativ anaërob sei [Luerssen (28) und Kühn, Severin (37), Makrinoff (24) u. a.].

Severin züchtete mit Erfolg Kulturen in Kohendyscher Bouillon streng anaërob.

Meine einschlägigen Beobachtungen beschränken sich auf das Tiefenwachstum des *Bulgaricus* im Agarstich, während meine Versuche anaërober Züchtung nach der alten Buchner-Salomonsenschen Methode negative Resultate lieferten.

Das Wachstum in Milch ist gekennzeichnet durch eine möglichst homogene serumlose, nicht labartige Gerinnung, mit einem Durchschnittsmilchsäuregehalt von 0,95 auf Milchsäure berechnet (Oehler [30]). Die Dichte des Milchgerinnsels ist natürlich, außer von dem darin vor sich gehenden Bakterienwachstum, bedingt von dem Wassergehalt, d. h. ob die Milch vorher eingekocht wurde oder nicht, während dieser Umstand für den Gehalt an Milchsäure ziemlich belanglos bleibt.

In Laktosebouillon macht sich das Wachstum des *Bulgaricus* durch eine wolkige Trübung der Flüssigkeit bemerkbar, sowie durch einen reichlich abgeschiedenen Bodensatz, der jedoch seiner Hauptsache nach nicht aus Bazillen besteht, sondern fast ganz von Substanzen gebildet wird, welche in amorpher Form aus der Nährflüssigkeit ausfallen (Eiweiß?). Ebenso geartet beobachtete auch Severin (37) das Wachstum des *Bacillus* in Cohendybouillon. Über die Konsistenz des Bodensatzes fand ich bei keinem Autor Aufklärung.

Die optimale Temperatur liegt nach meinen Erfahrungen etwa bei 45°, ich konnte aber auch schon bei 35° und noch bis 47° Wachstum konstatieren. Die meisten Autoren geben ebenfalls 45° als Optimum an. Oehler (30) beobachtete gutes Wachstum von 40—50°. Severin (57) züchtete meist bei 30° und scheint durch die Züchtergebnisse vollauf befriedigt worden zu sein, ja er spricht sogar von einem allerdings sehr langsamen Wachstum bei Zimmertemperatur, während Duggeli (20) betont, daß bei 20° kein Wachstum mehr stattfindet. Luerssen (23) und Kühn sprechen bei ihrem Körnchenbacillus von Temperaturen bis zu 50°. Ich beobachtete bei niederen Temperaturen langsames und spärliches Wachstum, aber lebenskräftige und langlebige (6—8 Tage) Formen, bei hohen Wärmegraden aber rasches, zahlreiches Wachstum, kurze Lebensdauer (3—4 Tage), bei kühler

Zimmer- oder Eisschranktemperatur bleiben Kulturen bis zu 6 Wochen am Leben, während getrocknete nach Severin eine Lebensdauer von ca. 3 Monaten aufweisen.

Außerdem soll noch die Zugabe von Calciumkarbonat in alle Nährböden¹⁾ außerordentlich lebensverlängernd auf den *Bac. bulgaricus* einwirken.

Endlich bemerkte ich eine erhöhte Lebensfähigkeit des *Bacillus*, wenn die entsprechenden Milchkulturen auch den Yoghurt-*Diplostreptococcus* und die gewöhnlichen Yoghurtbegleitbakterien enthielten. Versuche, dies experimentell durch Zugabe von Kochextrakten der erwähnten Nebenkulturen in die Nährböden zu beweisen, schlugen fehl.

2. Morphologie.

Der *Bac. bulgaricus* ist ein 5—50 μ langes, 0,7—1,5 μ breites Bakterienstäbchen mit schwach abgerundeten Ecken, meistens einzeln, selten in Ketten gelagert und vorzugsweise durch die schon oft erwähnte Körnchenbildung charakterisiert.

Allgemein anerkannte Eigenschaften des Mikroben sind außerdem seine Grampositivität und Säurefestigkeit. Die meisten Autoren, welche mit dem *Bac. bulgaricus* gearbeitet haben, erwähnen seine Färbbarkeit nach Gram, doch wird meistens gleich hinzugefügt, daß die Stäbchen sich gelegentlich nur teilweise nach Gram färben, während die andern Teile farblos bleiben. Ich machte diese Beobachtung ebenfalls, konnte aber noch weiter konstatieren, daß dieses teilweise Verlorengehen der Färbbarkeit nach Gram erst in älteren degenerierenden oder degenerierten Kulturen zutage tritt. Das gleiche konstatierte auch Piorkowski (34) und Kuntze (20).

Zur Darstellung der Körnchen bediente ich mich stets des Methylenblaus nach Löffler, welche Färbemethode mich niemals (auch ohne Kollodiumfixierung) im Stiche ließ. Luerssen (23) und Kühn sowie Kuntze (20) empfehlen die Neissersche Färbemethode für Polkörperchen (Hyg. Rundsch. 1903. No. 14). Dabei erwähnen beide Autoren auch die Färbemöglichkeit mit gewöhnlichem alkalischen Methylenblau. Kuntze (20) schreibt „bei den aus frischem Yoghurt angelegten Präparaten genügt fast immer Färbung mit wässrigem Methylenblau. Die Färbung nach Neisser kann in diesem Falle sogar irre führen, da die in ihren gestreckten Formen degenerierten Bazillen nicht ganz unähnliche Yoghurtheife sehr häufig mit essigsauerm Methylenblau tinguirbare Substanzen aufweist.“ Derselbe Autor empfiehlt auch zur Darstellung der Körnchen die Färbung nach Gram-Weigert (Anilinwassergentianaviolett, Jodjodkalium, Differenzierung mit Anilin, Nachfärben mit stark verdünntem, wässrigem Fuchsin). Oehler (30) erwähnt ebenfalls die Sichtbarmachung der Körnchen nach M. Neisser, desgleichen betont er die Darstellbarkeit nach Gram bei starker Entfärbung mit Alkohol, „am schönsten und sinnfälligsten aber“, fährt er fort, „ist die Färbung mit alkalischem Methylenblau. Die Körner erscheinen dann in leuchtendem Rot, während der übrige Bacillenleib blaßgrau gefärbt wird. Diese Färbung der Körner gelingt nur bei kurzer Färbung oder dünner Farblösung. Wirkt das Methylenblau zu lange und zu stark ein, dann überdeckt sich die Rotfärbung der Körner mit dem Blau des Farbstoffes. Sie erscheinen

¹⁾ Belonowsky, „Sur la prolongation de la vitalité du bacille bulgare“. (Soc. de Biol. T. 7. 1913. p. 374.) Zusatz von 0,8 Proz. Calciumkarbonat verlängere das Leben der Bazillen um das Doppelte. Zusatz von 4 Proz. erhalte sie mehr als 4 Monate lebend.

dann schwarz im dunkelblauen Bakterienleib. Am sichersten gelingt die Färbung der Körner, wenn man Kollodiumfixierung anwendet (1 Teil Kollodium, 14 Teile Äther, 5 Teile Alkohol werden in ganz dünner Schicht über das ausgetrocknete Präparat gegossen und alsbald, sowie der Äther abgedunstet ist, 10—20 Sek. lang mit gewöhnlichem Löffler'schen Methylenblau gefärbt)“.

Die Körnchen zeigen sich nach meinen Wahrnehmungen in ganz frischen und noch sehr lebenskräftigen Kulturen mit einem Alter von 12—14 Stunden meist nicht, oft gelingt es aber sie auch schon in diesem Alter durch Verdünnung der Farblösungen und Verkürzung der Färbezeit sichtbar zu machen. Mit dem zunehmenden Alter der Kulturen wird der Unterschied zwischen dem Bacillenleib und den Körnchen so lange immer deutlicher, bis sie mit dem Beginn der Degenerationserscheinungen wieder schlechter färbbar werden, um endlich ihre Fähigkeit Farbe anzunehmen ganz zu verlieren, lange bevor es auch mit dem übrigen Bakterienplasma soweit gekommen ist. Der Durchmesser der kugelförmigen Körner ist meist so groß, daß ihre Peripherie die Längskonturen des Stäbchens gerade tangiert. Für diese Jugendperiode ist es außerdem charakteristisch, daß sie meistens polar gelagert sind. Später verteilen sie sich über den ganzen Verlauf der Stäbchen oder Fäden in unregelmäßigen Abständen und nicht mehr so bestimmten Größenmaßen, d. h. man beobachtet Körner mit einem Durchmesser, der die Breite des Stäbchens übertrifft und solche, bei denen er sie nicht erreicht. In lange Zeit (3—4 Wochen) bei Zimmertemperatur aufbewahrten *Bulgaricus*-kulturen, die vorher sich als körnchenarm erwiesen hatten, fand ich nachher eine bedeutende Vermehrung der Körner. Im mikroskopischen Bilde erinnerten die Präparate aus diesen Kulturen bei flüchtigem Hinsehen stark an Streptokokken, so satt tinguierten sich darin die Körner in ihren ganz blassen Bakterienleibern. Einige Male bemerkte ich auch in solchen Ausstrichen einzelne Körnchen anscheinend eben im Begriffe aus dem Bakterien Schlauch auszutreten, oder demselben angelagert oder sogar kokkenartig freiliegend.

Etwas ähnliches scheint *Severin* (37) in anaëroben *Kohendybouillon*-kulturen beobachtet zu haben. Er schreibt: „Nicht selten begegnet man Fäden häufig in Schlingen und ganzen Knäueln. Bei der Mehrzahl das Plasma homogen, doch nicht selten begegnet man Fäden, bei denen das scharf veränderte Protoplasma in eine Reihe regelmäßiger Kernchen zerfällt und dann sieht der Faden wie eine Kette aus. Dort wo ein Fadenknäuel war, ergeben solche deformierte Fäden ein Konglomerat von kaviarartiger Körnchensubstanz und bloß wenn man genauer zusieht kann man erkennen, daß diese Körnchensubstanz in einer gewissen Anordnung, entlang den früher vorhandenen gewesenen Fäden verteilt ist, was auch an einzelnen Fäden in verschiedenen Stadien der Entwicklung dieser Körnchensubstanz bis zu den in der gekörnten Masse eingeschlossenen ganz regelmäßigen Fäden mit homogenem Plasma zu sehen ist; viele Körnchen, häufig diplokokkenartig, schwimmen gesondert, d. h. hier wird bereits ein weiterer Zerfall der Ketten in Kokken beobachtet.“

Die Körner wurden von fast allen Autoren beobachtet, eine Erklärung der Bedeutung dieser biologisch jedenfalls wesentlichen Gebilde fand ich jedoch nirgends. Nur *Oehler* (30) erwähnt, daß die Rotkörner keine Sporen sind, weil sie keine Sporenfärbung geben.

Die Verschiedenheit der Formen, unter denen sich der *Bac. bulgaricus* je nach dem Milieu in dem er sich befindet, zu erkennen gibt, ist groß. Von dem normalen Auftreten als körnchenloses oder -armes, gerades, satt-

gefärbtes Stäbchen (5—7 μ Länge) war schon die Rede. Von dieser normalen Form beobachtete ich Abweichungen zunächst in puncto Länge und Breite. In älteren Milchkulturen und ebenso in älterer Bouillon wuchs der *Bacillus* zu Fäden von einer Länge bis zu 50 μ und darüber. Ebendieselben langen Fäden waren es besonders, die ein sehr ungleichmäßiges Dickenwachstum aufwiesen, indem sie an manchen Stellen einen normalen Durchmesser aufwiesen, an manchen anderen aber einen solchen bis zu 1,5 μ . Ebenfalls separate Formveränderungen zeigten auf festen Nährböden (Agarplatte- und Stichkultur) degenerierende Bazillen, indem sie an den Enden sich involvierten, oder kolbig aufgetrieben wurden. Während diese eben erwähnten Degenerationsformen schon durch die Veröffentlichungen anderer Forscher [Severin (37), Kuntze (20)] bekannt geworden sind, fand ich in der Literatur keine Angaben über eine von mir beobachtete weitere Degenerationsform des Mikroben. Im Bodonsatze alter Bouillonkulturen nämlich, deren ehemals durch Bakterienwachstum getrübt Flüssigkeit sich längst wieder geklärt hatte, fand ich häufig flach rauten- oder spindelförmige *Bulgarici* mit zugespitzten Enden und der größten Breite ca. 0,7—1,0 μ in der Mitte der etwa 7—8 μ langen Spindelchen.

Versuche, moderne serodiagnostische Methoden in den Dienst der Yoghurtkontrolle zu stellen.

1. Orientierende Versuche.

Bevor ich mit der Schilderung meiner Versuche die Anwendung der serodiagnostischen Methoden für die Yoghurtkontrolle betreffend beginne, habe ich einige Versuche zu schildern, die ich unternahm, um mir Aufklärung zu verschaffen, welche Wirkungen Kulturen des *Bac. bulgaricus* im Körper verschiedener Versuchstiere hervorbringen würden und welches Schicksal die Bazillen dabei erfahren möchten.

Ich ging so vor, daß ich zur gleichen Zeit zwei Mäusen, drei Meerschweinchen und drei Kaninchen die Bazillen in Form einer Kochsalzabschwemmung 24 Stunden alter Plattenkulturen injizierte, und zwar nach folgendem Schema:

Maus 1	0,75 ccm subcutan
„ 2	0,75 ccm intraperitoneal
Meerschweinchen 1	1,00 ccm subcutan
„ 2	2,00 ccm intraperitoneal
„ 3	1,00 ccm intravenös
Kaninchen 1	5,00 ccm subkutan
„ 2	5,00 ccm intraperitoneal
„ 3	5,00 ccm intravenös.

Die beiden Mäuse, sowohl die intraperitoneal, als auch die subkutan unter die Rückenhaut injizierten trauerten ca. $\frac{1}{2}$ Stunde in zusammengekauerter Stellung unter beschleunigtem Atmen und gelegentlichem Zittern. Nach Ablauf der angegebenen Zeit aber erholten sie sich, fraßen wieder und blieben gesund. Die Meerschweinchen ließen kurz nach der Impfung ähnliche nur schwächere Anzeichen eines getrübt Wohlfindens erkennen, nur das intravenös behandelte Tier trauerte relativ lange (von 2 Uhr nachmittags bis 7 Uhr abends beobachtet), befand sich aber am nächsten Morgen bereits wieder ziemlich wohl, lief munter umher und fraß. Die an diesem Tier beobachteten Symptome dürfen meiner Anschauung nach nicht dem *Bac. bulgaricus* zur Last gelegt werden, sondern sie müssen wahrscheinlich auf

Kosten der der intravenösen Injektion vorausgehenden Operation gesetzt werden.

Der Hals des Meerschweinchens wurde auf der linken Seite im Verlauf der Jugularis enthaart, alsdann die Haut über der Vene parallel dem Verlauf derselben gespalten, das Gefäß frei präpariert und mit einer Pinzette unterfaßt. Nachdem die Injektion in die Vene beendet, wurde die Hautwunde durch Naht geschlossen.

Im weiteren Verlauf blieb auch dieses Tierchen, wie die beiden andern, vollkommen gesund. Bei den drei Kaninchen war die ganze Behandlung von wahrnehmbaren Symptomen eines gestörten Wohlbefindens nicht begleitet¹⁾.

Um mir die Frage nach dem Schicksal des *Bulgaricus* im Tierkörper zu klären, impfte ich 10 Mäuse mit je 0,75 ccm Kochsalzplattenabschwemmung unter die Rückenhaut. Sodann tötete ich die erst geimpfte Maus 10 Minuten nach der Impfung, die zweite nach 20 Minuten und so fort jedes weitere Tier 10 Minuten später als das vorhergehende, entnahm der geöffneten Rückenhaut eine Platinöse von der wenigen, an der Injektionsstelle gebildeten, sulz-

¹⁾ Einem großen starken männlichen Hund von ca. 70 Pfd. Gewicht (Doggenbastard) injizierte ich unter allen Kautelen der Asepsis und Antisepsis 30 ccm einer guten *Bulgaricus* yoghurtkultur, deren Milchsäure vorher neutralisiert worden war, intraperitoneal. Gleich nach der Injektion war der Hund, abgesehen von der durch die ziemlich umständliche und alle Beteiligten heftig strapazierende Vergewaltigung, verursachten Depression ca. 10 Minuten ohne besondere Anzeichen von Krankheit, folgte den an ihn gerichteten Befehlen prompt, fraß mit anscheinend gutem Appetit usw. 20 Minuten nach der Operation begann das Tier träger dem es im Zimmer herumführenden Diener zu folgen, ließ sich an der Leine ziehen, um sich endlich durch hartnäckige passive Resistenz jedem Bemühen, es weiter zu bewegen, zu widersetzen. Jetzt lag der Hund in einer sonderbaren Stellung auf dem Boden, den Hinterleib ängstlich aufgezogen und die Vorderbeine steif von sich gestreckt haltend, zugleich erbrach er wiederholt und anscheinend unter Schmerzen. Der Puls wurde rasch drahtförmig, die Atmung ängstlich und beschleunigt, die sichtbaren Schleimhäute vollkommen anämisch. Die Mastdarmtemperatur war während der ersten Zeit nicht wesentlich verändert. Allmählich verfiel das Tier in einen Zustand vollkommener Gleichgültigkeit gegen die Umgebung und allen an ihm vorgenommenen Manipulationen gegenüber. Während dieser Periode war die Mastdarmtemperatur des Hundes subnormal. In diesem lethargischen Stadium verblieb der Hund von 2 Uhr nachmittags bis etwa 8 Uhr abends. Gegen Ende dieser Zeit begannen seine Schleimhäute sich wieder zu röten, die Mastdarmtemperatur erhielt ihre normale Höhe zurück. Um 10 Uhr war der Hund, abgesehen von einer immer noch großen Mattigkeit, wieder mobil und begann zu fressen. Am andern Tage machte er bereits wieder den Eindruck eines vollkommen gesunden Tieres. Die Deutung dieses Symptomekomplexes war zunächst nicht einfach. Hatte etwa der *Bac. bulgaricus* für den Fleischfresser toxische Wirkungen, oder war es die Resorption der 30 ccm geronnener Milch (im Verhältnis zu den Dosen, welche die anderen Versuchstiere erhalten hatten, wenig), welche so große Schwierigkeiten machte. Keiner dieser beiden Erklärungsmöglichkeiten konnte ich mich recht befreunden. Die Lektüre des Buches von J. L. Citron „Die Methoden der Immunodiagnostik und Immunotherapie“ führte mich im Kapitel „Anaphylaxie“ auf eine Stelle folgenden Wortlauts: „Der anaphylaktische Shock verläuft nach der Schilderung der genannten Autoren etwa so, daß Hunde, die drei Wochen vorher 3—5 ccm Pferde- oder Rinderserum erhalten haben, nach einer intravenösen Injektion von 10 ccm des betreffenden Serums schon nach einer halben Minute unruhig werden, zu brechen beginnen, Harn und Stuhl entleeren. Dann folgt ein Stadium außerordentlicher Schwäche, bei dem die Hunde mit gelähmten, weggestreckten Beinen ruhig daliegen. Nach einigen Stunden erholen sich die Tiere entweder oder gehen ein“. Ferner betont Pfeiffer (32) als im Mittelpunkt anaphylaktischer Krankheitserscheinungen stehend, den „anaphylaktischen Temperatursturz, der 7—13° C betragen kann.“ Alles in allem schien mir das Krankheitsbild meines Versuchshundes dem anaphylaktischen so sehr zu gleichen, daß die Vermutung, es handle sich bei dem bekannten Symptomekomplex um einen anaphylaktischen Shock, gerechtfertigt erscheint. Wahrscheinlich hatte der Hund eine angeborene oder erworbene Überempfindlichkeit für Milch.

artigen Substanz, strich dieselbe auf einen Objektträger und färbte nach G i e m s a. Ebenso verfuhr ich mit einem Frosch, in dessen eröffneter Rückenhautfalte ich ein Depot von *Bulgaricus*-Kultur anlegte, woraus ich entsprechend dem langsameren Vorgehen der meisten biologischen Reaktionen beim Kaltblüter zunächst alle Viertel- dann alle halben Stunden eine Probeöse entnahm.

Das seltsame Ergebnis dieser Versuche war, daß trotz aller Mühe keine Phagozytose beobachtet werden konnte. Im mikroskopischen Bild waren auf allen Präparaten spärliche rote Blutkörperchen vertreten, während Leukozyten auch nicht in einem auffindbar waren. Daneben ließen die Präparate erkennen, wie die in ihnen enthaltenen *Bulgarici*, je längere Zeit sie im Körper der Versuchstiere verbracht hatten, desto mehr an Deutlichkeit der Form und Satttheit der Färbung verloren, bis sie in den letzten Präparaten allmählich aufgelöst zu sein schienen. Da die Milchsäure die Eigenschaft besitzen soll, die Einwanderung von Leukozyten in negativem Sinne zu beeinflussen, dürfte bei der Deutung dieser Versuchsergebnisse ev. an Bakteriolyse unter Ausscheidung der Phagozytose gedacht werden.

2. Präzipitationsversuche.

Ich hegte die Absicht, mich bei meinen Präzipitationsversuchen der von F o r n e t empfohlenen sog. Schnellimmunisierungsmethode, der A s c o l i s c h e n Thermopräzipitation, sowie der ebenfalls von F o r n e t empfohlenen „Ringprobe“ zu bedienen, all das, um die Reaktion im Hinblick auf ihre praktische Verwendung möglichst leicht und einfach zu gestalten.

Man unterscheidet folgende Hauptgruppen von Immunisierungsmethoden: 1. Die sog. klassische Methode. Nach ihr wird das fremdartige Eiweiß 4—6-mal mit Zwischenräumen von 5—7 Tagen eingeführt, und zwar gewöhnlich in die Ohrvene. Der Gesamtverlauf der ganzen Immunisation dauert hier 3—5 Wochen. 2. Die Methode von F o r n e t und M ü l l e r (1908) sog. Schnellimmunisierungsmethode. Die Versuchstiere erhalten in den ersten 3 Tagen steigende Dosen artfremden Eiweißes, nach 15 Tagen sind die Tiere reif zur Blutentnahme. 3. Ist auch eine Methode in Anwendung, welche das Antigen zweimal in einem Zeitabstand von etwa 1 Monat den Versuchstieren einverleibt. 4. In allerletzter Zeit schlägt R a y s k y (35) schnelle Gewinnung von kräftigen Präzipitinen (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 77. H. 1) vor, eine Tatsache, die allerdings schon viel früher (1903 v. D u n g e r n, 1904 H a u s e r, 1908 M e r k e l) beobachtet und ausgenutzt worden war, daß nämlich im Blute immunisierter Tiere, bei denen das Präzipitin bereits aus dem Blute wieder verschwunden war, sehr rasch wieder ein sehr intensives Präzipitin auftritt, wenn man die Eiweißinjektion wiederholt. Der Verfasser hat sehr wohl Kenntnis von der durch andere (U h l e n h u t h und W e i d a n z) vertretenen Ansicht, daß bei der Erneuerung der Immunisation sehr oft das vollständige Verschwinden der Antikörper beobachtet werden kann, aber er erklärt den Verlauf der ganzen Immunisation als einen streng zyklischen Prozeß, der unter Umständen mehrere Monate bis zu seinem vollkommenen Ablauf beansprucht, und dessen absteigende Linie sich durch einen neuen immunisatorischen Reiz nicht unterbrechen oder umkehren läßt. Erfolgt aber, nach dem Abschluß des Immunisationszyklus, erneute Einführung von Antigen, so resultiert stets schnelles Auftreten kräftiger präzipitierender Körper im Organismus. Seiner Anschauung nach gehen während des Ablaufs des Immunisationszyklus im Organismus des Tieres Veränderungen vor

sich, die auf eine Vervollkommnung und Verbesserung des Mechanismus der Reaktion auf wiederholte Einführung von Antigen hinzielen.

Das wesentliche der Askolischen Thermopräzipitation ist die Verwendung von Kochextrakten aus Organen als Antigen.

Wie lange ich dieser meiner Ansicht treu blieb und wie ich es später versuchte, meine Versuchsanordnungen verschiedenen andern Methoden anzunähern, weil die projektierten versagten, wird aus der folgenden Schilderung ersichtlich.

Ich injizierte 8 Versuchstieren intraperitoneal in steigender Dosis an drei aufeinanderfolgenden Tagen sterile Kochsalzabschwemmung von 24 Stunden alten Plattenkulturen des *Bac. bulgaricus* wie folgt:

Kaninchen	Gewicht	Geschlecht	Dosis		
			am 1. Tag	am 2. Tag	am 3. Tag
51	3,25 kg	männlich	5 ccm	7 ccm	10 ccm
52	2,75 kg	„	5 ccm	7 ccm	10 ccm
53	2,40 kg	weiblich	5 ccm	7 ccm	10 ccm
54	3,00 kg	trächtig	5 ccm	7 ccm	10 ccm
55	2,50 kg	„	5 ccm	7 ccm	10 ccm
56	2,00 kg	männlich	5 ccm	7 ccm	10 ccm
57	3,10 kg	„	5 ccm	7 ccm	10 ccm
19	2,75 kg	weiblich	5 ccm	7 ccm	10 ccm
Kontrolle 14	2,75 kg	männlich	—	—	—

Die erste Blutentnahme erfolgte am 6. Tag nach der letzten intraperitonealen Impfung. Jedem Kaninchen wurde aus der Ohrrendvene mittels steriler Hohlneedle 4 ccm Blut entnommen. Dieses Blut ließ ich in sterilen Reagensgläsern bei Eisschranktemperatur stehen, bis der Blutkuchen sich von dem nicht durch Hämolyse rot gefärbten und nicht chylösen Serum abgeschieden hatte¹⁾, welches zuletzt noch vollkommen klar zentrifugiert wurde. Das Antigen gewann ich nach der von Askoli für Milzbrand bewährt gefundenen Thermopräzipitationsmethode, d. h. ich stellte Dekokte aus *Bulgaricus*-Yoghurtmilch her, filtrierte sie und gedachte die erhaltenen klaren Filtrate ohne weiteres als Antigen zu benutzen. Da zeigte es sich nun, daß gelegentlich ein so starker Wasserverlust derselben statt hatte (welcher durch Änderung des spez. Gewichtes die Isotonie zwischen Immunserum und Antigen störte), daß die sogleich zu schildernde Überschiebung der eben erwähnten Komponenten unmöglich wurde, ja daß sogar mitunter unspezifische Ringbildungen und Trübungen zu beobachten waren. Diese Fehlerquelle ließ sich nach ihrer Erkennung leicht vermeiden, indem ich das Erlennmeier-Kölbchen, welches die abzukochende Milch enthaltend, im Wasserbade der Siedetemperatur ausgesetzt war, mit einer so langen luftgekühlten Glaskondensröhre versah, daß kein Wasserverlust mehr zu konstatieren war. Die Ringprobe wurde in 7 cm langen, dünnwandigen Glasröhrchen von 8 mm Durchmesser und (auf Anraten von Herrn Amtstierarzt Dr. W. Ernst) mit flachem Boden unter Verwendung steriler Kapillarpipetten ausgeführt und gelang nach Wunsch. Die flachbodigen Uhlenthühröhrchen bewiesen vor denen mit runder Bodenkuppe einen doppelten Vorzug. 1. Wiesen sie die bei letzteren sich gelegentlich störend bemerkbar machenden Reflexerscheinungen nicht auf und 2. gestatteten sie mit viel geringeren Mengen sowohl des Immunserums als auch des Antigens zu arbeiten. Das Ergebnis des Präzipitationsversuches aber war vollkommen negativ. Also:

¹⁾ Um nicht chylöse und nicht opaleszierende Sera zu erhalten, ließ ich die Tiere jeweils 12 Stunden vor der Blutentnahme hungern.

Kaninchen	6. Tag	8. Tag	10. Tag	15. Tag
51	—	—	—	—
52	—	—	—	—
53	—	—	—	—
54	—	—	—	—
55	—	—	—	—
56	—	—	—	—
57	—	—	—	—
19	—	—	—	—
Normalkontrolle	—	—	—	—

d. h., es konnte an der Berührungszone des Immunserums mit dem Antigen auch nach längerer Zeit keine ringförmige oder sonstige Trübung nachgewiesen werden. Ebenso wenig enthielten die Röhren am nächsten Tage irgendeine Art von Niederschlag oder Bodensatz.

Auf Grund dieser negativen Ergebnisse beschloß ich nun zunächst einen intensiveren Immunisierungsreiz auszuüben, d. h., neben der intraperitonealen Impfung auch intravenös größere Quanten von Bazillenemulsion beizubringen. Ich hielt das Gelingen des Versuches für um so wahrscheinlicher, als durch die schon nach 16-tägiger Pause fortgesetzten Impfungen eine allenfalls noch in aufsteigender Linie begriffene Immunität eventuell hätte kumuliert werden können. Ich injizierte also den bekannten Versuchstieren Kochsalzplattenabschwemmung 24 Stunden alter *Bulgaricus*-Kulturen an drei aufeinanderfolgenden Tagen in folgender Weise:

1. Tag		2. Tag		3. Tag	
intraperitoneal	intravenös	intraperitoneal	intravenös	intraperitoneal	intravenös
10,0 ccm	5,0 ccm	12,0 ccm	5,0 ccm	15,0 ccm	5,0 ccm

Während der Zeit zwischen der letzten Impfung und der für den 10. Tag geplanten Blutentnahme starben vier der Versuchstiere an Brustseuche (infektiöse Pneumonie der Kaninchen), so daß ich es für geraten hielt, den überlebenden Rest von meinen Versuchen gleichfalls auszuschalten.

Aus einem anderen Stall bezog ich vielmehr 9 neue¹⁾, bis dahin anscheinend vollkommen gesunde Kaninchen, die ich in der zuletzt erwähnten Weise an 3 aufeinanderfolgenden Tagen intraperitoneal und intravenös zu gleicher Zeit behandelte. Ich prüfte diesmal mit 2 verschiedenen Antigengruppen. 1. Mit *Bulgaricus*-Yoghurtdekoken (hergestellt wie früher), 2. mit Extrakten aus Kochsalzplattenabschwemmung. Letztere wurde in drei Formen hergestellt.

Form 2a: Die Emulsion wurde im Wasserbad mit Kondensröhre (s. o.) ca. $\frac{1}{4}$ Stunde gekocht, dann abgekühlt und klar filtriert.

2b: wurde im Brutschrank 12 Stunden einer Temperatur von 55° ausgesetzt usw.

2c: wurde bei Zimmertemperatur unter häufigem energischen Umschütteln ca. 4 Stunden belassen. Die Antigene 2 (a, b u. c) wählte ich von dem Gedanken geleitet, daß es nach dem wahrscheinlichen abermaligen Mißlingen

¹⁾	Kaninchen	Geschlecht	Gewicht
	58	männlich	2,75 kg
	59	weiblich	2,50 kg
	60	„	2,50 kg
	61	„	3,25 kg
	62	„	3,00 kg
	63	„	3,50 kg
	64	männlich	3,25 kg
	65	„	2,50 kg
Kontrolltier	20	männlich	3,25 kg.

der Präzipitationsversuche mit Milchantigen interessant sein werde zu untersuchen, ob der *Bac. bulgaricus* überhaupt (ev. bei einer anderen Versuchsanordnung) imstande ist, das gewünschte biologische Phänomen zu erzeugen. 2a entspräche also rein den Anforderungen der Askolischen Thermopräzipitationen. 2b sollte für den Fall in Betracht kommen, daß die bei a verwendete Hitzeeinwirkung zu stark wäre und allenfalls die bei der Reaktion in Betracht kommenden präzipitierenden Substanzen schädigen oder zerstören sollte (ich hielt die Temperatur von 55° 12 Stunden lang angewendet für geeignet, diesen Zweck zu erreichen und trotzdem die Bakterien zu töten und zu extrahieren).

Bei 2c dachte ich auf eine ganz zwanglose Weise die Ausscheidungsprodukte der Bakterien, welche ja vielleicht auch für eine Reaktion in Betracht kommen könnten zu erhalten. In diesem Verfahren war also eine Art von Auslaugung kombiniert mit einer versuchten Annäherung an die sonst übliche Schüttelmethode (vermittels eines Schüttelapparates). Die erste Blutentnahme erfolgte am 10. Tage nach der letzten Impfung, die 2. am 14., die 3. am 16. und die 4. am 20. Tage. Die mit den üblichen Kontrollen und mit den beiden vorerwähnten Antigengruppen angestellten Präzipitationsversuche verliefen aber vollkommen negativ.

Bevor ich indes meine Versuche auf diesem Gebiete einstellte, interessierte es mich noch, Aufklärung über einige weitere Fragen zu erhalten. Diese lauteten: 1. wie ist das Versuchsergebnis, wenn die Versuchstiere mit *Bulgaricus*-Kuhmilchyoghurt immunisiert werden und wenn als Antigen ein filtriertes Dekokt von *Bulgaricus*-Eselsmilchyoghurt verwendet wird? 2. Eignen sich event. andere Tiere (Mäuse, Meerschweinchen) besser als Versuchsobjekte?

Ad 1. Ich impfte die bereits bekannten 8 Kaninchen, beginnend am 24. Tage nach der letzten Blutentnahme 3-mal an drei aufeinanderfolgenden Tagen intraperitoneal mit je 10 ccm *Bulgaricus*-Kuhmilchyoghurt. Die erste Blutentnahme nahm ich am 10., die 2. am 13., die 3. am 16. und die 4. am 20. Tage nach der letzten Impfung vor. Bei den Präzipitationsversuchen verwendete ich ein klarfiltriertes Dekokt aus *Bulgaricus*-Eselsmilchyoghurt, sowie die üblichen Kontrollen. Das Ergebnis war folgendes:

Kaninchen	10. Tag	13. Tag	16. Tag	20. Tag
58	—	—	—	—
59	—	—	—	—
60	—	—	—	—
61	±	±	±	±
62	—	—	—	—
63	++	++	++	++
65	—	—	—	—
64	++	++	++	++
Norm. 20	±	±	±	±

Die Bedeutung dieser positiven Reaktionen bei zweien der Immunsera und der einen fraglichen in No. 61 erhellt so wenig aus der bestenfalls nur ev. positiven Reaktion im Normalserum, als aus der vergleichweisen Benutzung von Plattenabschwemmung als Antigen (2a, 2b, 2c), welche sowohl im Immun- als auch im Normalserum vollkommen negative Reaktionen ergab.

Soviel scheint mir festzustehen, daß die erwähnten positiven Reaktionen nicht als Präzipitation aufgefaßt werden dürfen, da sonst wenigstens das in seiner Zusammensetzung dem Eselsmilchantigen vollkommen gleichwertige Antigen 2a ebenfalls hätte reagieren müssen. Vielleicht existiert in Milch im

allgemeinen irgendein unspezifischer Körper mit einem Verhalten analog etwa dem des Linseneiweißes.

Ad 2: Ich impfte dreimal 3 Meerschweinchen je dreimal (Zwischenraum zwischen den einzelnen Impfungen 6 Tage — Anlehnung an die klassische Methode) in steigender Dosis mit 2,0, 3,0 und 4,0 ccm *Bulgaricus* -milchyoghurt intraperitoneal. Die Blutentnahme erfolgte durch Eröffnung der Halsschlagader und Verblutenlassen des Tieres. Die erste Gruppe tötete ich am 10. Tage nach der letzten Impfung, die zweite Gruppe nach dem 15. und die dritte Gruppe am 20. Tage. Als Antigen diente 2a, 2b und c. Die an den drei genannten Tagen mit den üblichen Kontrollen angestellten Präzipitationsversuche verliefen so negativ wie die jetzt zu schildernden.

Am 10. Tage nach der letzten Impfung:

Meerschweinchen	2a	2b	2c
1	—	—	—
2	—	—	—
3	—	—	—
Kontrolle:	—	—	—

Am 15. Tage nach der letzten Impfung:

Meerschweinchen	2a	2b	2c
4	—	—	—
5	—	—	—
6	—	—	—
Kontrolle:	—	—	—

Am 20. Tage nach der letzten Impfung:

Meerschweinchen	2a	2b	2c
7	—	—	—
8	—	—	—
9	—	—	—
Kontrolle:	—	—	—

Ich impfte 3 möglichst große Mäuse dreimal mit 6-tägigen Zwischenräumen zwischen den einzelnen Impfungen mit je 1 ccm *Bulgaricus*-Yoghurt intraperitoneal und gewann ihr Blut am 18. Tage nach der letzten Impfung dadurch, daß ich dem Tierchen in gerade noch nicht tödlicher Chloroformnarkose die Brusthöhle eröffnete, rasch die Lunge entfernte und das Herz aufschnitt. Nun strömte ein immerhin für einen Versuch reichendes Blutquantum in die Brusthöhle. Dieses saugte ich rasch in steriler Kapillarpipette mit kurzem Kapillarteil auf. Die größte Schwierigkeit bestand darin, so rasch zu arbeiten, daß das nötige Quantum gewonnen war bevor es gerann. Im weiteren Verlauf pflegte ich dann die Pipette oben mit dem Finger zu verschließen und unten zuzuschmelzen. In diesen Behältern, die nachträglich oben mit einem Wattepfropf geschlossen wurden, schied sich im Eisschrank bald das Serum vom Blutkuchen, daß ich es abermals mit steriler Kapillarpipette vorsichtig absaugen und zur Präzipitationsreaktion in eigens von mir angefertigte engere als die bisher gebrauchten *Uhlenhuth*-Röhrchen (ca. 4 mm weit) verbinden konnte. Als Antigen benutzte ich 2a. Das Ergebnis des Versuches war negativ.

Maus	Reaktion
1	—
2	—
3	—
Kontrolle	—

3. Anaphylaxieversuche.

Da es mir nicht geglückt ist, durch Impfungen mit dem *Bac. bulgaricus* präzipitierende Sera zu erzielen, gab ich mich nunmehr der Hoffnung hin, auf dem Gebiete der Anaphylaxie Positives beobachten zu können. Ich impfte 10 Meerschweinchen dreimal in 6 tägigen Intervallen intraperitoneal mit je 3 ccm 24 Stunden alten *Bulgaricus*-Yoghurts. Am 30. Tage nach der letzten Impfung versuchte ich den anaphylaktischen Shock auszulösen, indem ich den Tieren ganz kleine Mengen (0,5 ccm) eines stark verdünnten Kochsalzplattenabschwemmungsdekoktes auf dem Wege der von Morgenroth (5) empfohlenen intrakardialen Injektion beibrachte. Zur Ausführung der intrakardialen Injektion wurde durch Palpation des Spitzenstoßes die Lage des Herzens genau festgestellt, sodann neben dem Schaufelknorpel die Nadel unter entsprechender Direktion ins Herz gestoßen. Wenn das Herz richtig getroffen ist, fließt durch die möglichst dünn zu wählende Hohnadel Blut aus. Nach der Injektion hätten nun die Versuchstiere im Falle einer positiven Reaktion nach Pfeiffer (32) beiläufig folgende Symptome zeigen sollen: „Die Tiere werden unruhig, laufen ängstlich hin und her, kratzen sich, sind schreckhaft. Ihr Fell sträubt sich, es treten einzelklonische Zuckungen auf, ein lebhafter Singultus stellt sich ein und die Entleerung fester, später flüssiger Stühle, sowie von Harn dauert an. Die Bauchdecken sind prall gespannt, es besteht manchmal ein ausgesprochener Pruritus cutaneus. Dieses vorübergehende Bild einer Erregung leitet aber bald in eine ausgesprochene Depression hinüber, in welcher die Meerschweinchen von großer Mattigkeit und Muskelschwäche befallen werden, sie legen sich auf die Seite und bleiben so langsam und schwach atmend durch Stunden liegen. Führt der Shock zum tödlichen Ausgang, so tritt er in der weitaus überwiegenden Anzahl der Fälle erst nach 1—2 Stunden ein.“ Von diesen Symptomen konnten nur folgende beobachtet werden: 1. ganz vorübergehend vermehrte Schreckhaftigkeit der Tiere (wahrscheinlich eine Folge der Aufregung durch die Injektion). 2. Gelegentliches Sichkratzen (aber kein ausgesprochener Pruritus cutaneus) während alle wesentlicheren Erscheinungen, z. B. Krämpfe, mattes Aufderseiteliegen oder gar der Exitus letalis, ausblieben. Alle Versuchstiere blieben munter, balgten sich bald nach der Injektion in ihrem Käfig und fraßen, so daß ich auch diesen Versuch als negativ verlaufen bezeichnen muß.

4. Agglutinationsversuche.

Da immerhin zu erwarten war, daß Antikörper irgendwelcher Art als Folgeerscheinung der verschiedenen Immunisierungen im Blute der Versuchstiere auftreten würden, wenn auch Präzipitine und anaphylaktische Erscheinungen nicht beobachtet werden konnten, versuchte ich noch die Agglutination und zwar nach der Technik der Rotzagglutination.

Das von Gruber und Durham entdeckte Phänomen der Agglutination wurde zuerst von dem Pariser Kliniker Widal zur Serediagnostik Typhuskranker herangezogen. „Widalsche Reaktion.“ Nach der Zugabe von Serum zur Bakterienemulsion wird nach dieser Methode die Reagensreihe auf 2 Stunden in 37° Brutschrank gebracht. Nach dieser Zeit kann mit der Beurteilung der Resultate begonnen werden. Doch ist der Zeitraum bis zur definitiven Vollendung der Reaktion ein viel größerer, bis 24 Stunden. Daß sich nicht nur bei der Typhusagglutination, sondern auch sonst häufig ähnlich lange Versuchszeiten ergeben, lehrt u. a. die Verwendung der Widalschen Technik durch Wladimiroff bei der Agglutinationsdiagnose des

Rotzes. Auch hier verliefen Zeiträume von bis zu 24-stündiger Dauer bis zur Vollendung der Reaktion. Eine Folge der sich allseits bemerkbar machenden Bemühungen im Interesse einer raschen Seuchendiagnostik diese langen Versuchszeiten abzukürzen war die Entdeckung von G a e h t g e n s und A o k i, daß sich der Verlauf des Agglutinationsverfahrens noch wesentlich beschleunigen läßt, sofern man nach erfolgter Einwirkung der Agglutine auf die agglutinable Substanz der Bakterien die Ausfällung der Flocken durch Zentrifugieren beschleunigt. G a e h t g e n s (13) konnte in einer großen Anzahl von Fällen feststellen, daß sich die Agglutinationsfähigkeit von Serum auf Typhusbazillen durch 10 Minuten langes Zentrifugieren in gleicher Weise feststellen läßt, als dies in der bisher üblichen Manier durch das langsam erfolgende Absetzenlassen der Bakterien geschah. Bei negativem Ausfall der Reaktion war sowohl in den eigentlichen Proben als auch in der Kontrolle (Bazillenemulsion allein) nach 10 Minuten langem Zentrifugieren ein scharfrandiger, linsenförmiger Belag von ausgeschleuderten Bazillen in der Kuppe des Gläschens vorhanden, der sich durch Schütteln wieder leicht gleichmäßig in der Flüssigkeit suspendieren ließ. Bei positivem Ausfall der Reaktion aber entstand ein Bodensatz von 2—3-mal größerem Durchmesser, der nach der Peripherie zu feiner und durchsichtiger wurde und einen unregelmäßig zackigen Rand zeigte. Dieser Bodensatz verteilte sich beim Schütteln nicht mehr gleichmäßig, sondern ließ deutliche Flocken erkennen. 1908 veröffentlichte Dr. M. M ü l l e r (29) auf p. 595 d. Berlin. Tierärztl. Wochenschr. einen „Beitrag zur Agglutinationstechnik bei Rotz“. Nachdem der Autor erwähnt hat, daß für die Rotzagglutination unter Benützung einer Zentrifuge mit 2000 Umdrehungen 5 Minuten Zentrifugieren genügt, sowie daß die verwendeten Agglutinationsgläschen eine „kugelsegmentartige Kuppe“ haben müssen, faßt er die wesentlichsten Punkte seiner Untersuchungen folgendermaßen zusammen: „Ich habe das Schnellagglutinationsverfahren mit dem bisher üblichen vergleichsweise sowohl unter Verwendung von Emulsion lebender als auch getöteter Rotzbazillen geprüft und hierbei gefunden, daß sich abgetötete Bazillen wesentlich besser als lebende zur Schnellagglutination eignen, insbesondere auch dann noch, wenn die abgetöteten Bazillenaufschwemmungen bereits eine stark schleimig-klebrige Beschaffenheit angenommen haben. Der Belag in der Glaskuppe war nämlich unter Verwendung abgetöteter Bakterien bei erfolgter Agglutination nach dem Zentrifugieren stärker ausgebreitet und seine Beurteilung demzufolge leichter als dies bei Verwendung lebender Bazillen der Fall war. Insonderheit möchte ich darauf hinweisen, daß eine Veränderung des Agglutinationstiters der Sera durch das Zentrifugieren nicht stattfand.“

Als Versuchstiere verwendete ich von den bei den Präzipitationsversuchen gebrauchten Kaninchen No. 63 und 64 (die übrigen Tiere waren inzwischen für andere Versuche benützt worden). Diese beiden Kaninchen, die also seit ca. 4 Wochen keiner immunisierenden Impfung unterworfen worden waren, behandelte ich nun an drei aufeinanderfolgenden Tagen intravenös mit steigenden Dosen 24 Stunden alter Kochsalzplattenabschwemmung. Die Dosis der ersten Impfung betrug 5 ccm, die der zweiten 6 ccm, die der dritten 7 ccm. Die Bakterien der zur Impfung verwendeten Emulsionen wurden diesmal vorher bei 60° C abgetötet. (Empfohlen bei C i t r o n.) 8 Tage nach Beendigung des Impfturnus nahm ich die erste Blutentnahme vor, wobei die Vorbehandlung des Serums die gleiche war wie bei den Präzipitationsversuchen. Als Antigen diente ebenso zur Reaktion selbst, wie vorher zur Immunisierung

eine Kochsalzabschwemmung von 24 Stunden alten Plattenkulturen, die ebenso wie die Impfemulsion durch Watte filtriert wurde, um allenfallsige Agarteilchen zu entfernen und sonach in mehreren mikroskopischen Ausstrichen auf morpho- und biologische Intaktheit der Bakterien und besonders auf die Gleichmäßigkeit ihrer Verteilung in der Flüssigkeit geprüft wurde. In der einschlägigen Literatur wird gelegentlich von der Schwierigkeit gesprochen, mit welcher die Herstellung gleichmäßiger Bazillenemulsion verknüpft sei.

Kolle und Pfeiffer haben ein eigenes nach ihnen benanntes Verfahren ausgearbeitet, das bei Citron folgendermaßen geschildert wird: „In eine Reihe Reagensgläser gibt man je 1 ccm abfallender Serumverdünnungen usw. Hierauf entnimmt man einer 18—24 Stunden alten Agarkultur eine Platinöse voll Bakterienmasse und verreibt diese Quantität möglichst gleichmäßig in jedem Reagensglas. Man faßt zu diesem Behufe das Reagensglas, in welchem die physiologische Kochsalzlösung resp. die Serumverdünnung enthalten ist, mit dem Daumen und Zeigefinger der linken Hand und hält es nahezu wagerecht. Dann führt man mit dem Daumen und Zeigefinger der rechten Hand den Platinhalter mit der gefüllten Normalöse in das Reagensglas ein und verreibt die Kulturmasse an der von der Flüssigkeit benetzten Glaswand (nicht in der Flüssigkeit selbst). Durch Rollen des Reagensglases läßt man die Flüssigkeit über die verriebenen Bakterien hinweglaufen, wobei ein Teil weggespült wird, während ein anderer Teil meist noch am Glasrand haften bleibt. Dieser Rest wird mit der Platinöse wieder verrieben und dann versucht ihn mit der Flüssigkeit hinwegzuschwemmen. Diese Prozedur wird so lange wiederholt, bis die Bakterien abgeschwemmt sind. Man erhält auf diese Weise außerordentlich gute Bakterienabschwemmungen von größter Homogenität.“

Bei meinen einschlägigen Arbeiten bereitete mir der *Bac. bulgaricus* keinerlei besondere Schwierigkeiten. Ich erreichte immer gleichmäßige Verteilung der Bakterien in den Emulsionen: 1. durch gründliches Verreiben der Kulturen mit dem Drygalski-Spatel auf der Agarplatte; 2. durch Filtration durch lockere Wattelagen, welche einzelne Bakterien ebenso leicht passieren ließen, als sie zu Klümpchen geballte oder Agarteilchen zurückhielten; 3. durch häufiges Schütteln des Kolbens, worin sich die Emulsion befand. Ich beobachtete nie, daß nach dem Filtrieren der Bakteriengehalt meiner Emulsionen erkennbar geringer geworden wäre als vorher. Weder durch mikroskopische Untersuchung konnte ich eine Abnahme der Durchschnittszahl von in einem Gesichtsfeld enthaltenen Bakterien wahrnehmen, noch durch makroskopische Betrachtung ein verdünnteres Aussehen der nach wie vor gleichmäßig wolkig getrübten Emulsion konstatieren, wohl aber fehlten der Emulsion, wie sich mikroskopisch nachweisen ließ, nach dem Filtrieren die vorher immer reichlich vorhandenen Agar- und Bazillenklümpchen. Wahrscheinlich liegen bei anderen Bakterienarten, mit denen die oben zitierten Autoren hauptsächlich gearbeitet haben, die Verhältnisse ungünstiger, jedenfalls hatte ich den Eindruck, daß bei dem Arbeiten mit dem *Bac. bulgaricus* ihre Methode entbehrlich ist. Der Bakteriengehalt meiner Emulsionen sei durch die Mitteilung gekennzeichnet, daß ich ihre Dichte auf grobsinnliche Weise derjenigen der bei den Rotzagglutinationen verwendeten Bakterienaufschwemmungen anzunähern bemüht war.

Ich stellte zwei Versuchsreihen an, eine Reihe mit Verdünnungen des Serums No. 64 (No. 63 war während der Immunisierungsperiode zugrunde

gegangen) von 1 : 10 bis 1 : 100 und eine Reihe mit den gleichen Verdünnungen eines Normalserums. Dazu kam als Kontrolle je ein Gläschen, welches nur Bazillenemulsion enthielt. Wie schon erwähnt, waren die Bakterien der Emulsionen bei 60° abgetötet worden. Die Verdünnungsmethode ist aus folgendem ersichtlich:

Serum		Bazillen		Verdünnung		NaCl-Lösungszugabe
0,2	+	2,0	=	1/10	+	0,0
0,1	+	2,0	=	1/20	+	0,1
0,07	+	2,0	=	1/30	+	0,13
0,05	+	2,0	=	1/40	+	0,15
0,04	+	2,0	=	1/50	+	0,16
0,03	+	2,0	=	1/60	+	0,17
0,028	+	2,0	=	1/70	+	0,172
0,025	+	2,0	=	1/80	+	0,175
0,022	+	2,0	=	1/90	+	0,178
0,020	+	2,0	=	1/100	+	0,180
Kontr.		2,2 Bazillenemulsion.				

Nachdem in beiden Versuchsreihen die Serumverdünnungen eingehend mit der Bazillenemulsion durchmischt waren, wurden sie auf die Dauer einer halben Stunde im Brutschrank einer Temperatur von 37° ausgesetzt. Darauf wurde jedes der 22 Gläser 4 Minuten in einer Zentrifuge mit 2000 Umdrehungen zentrifugiert. Das Resultat nach dem Zentrifugieren war:

Agglutination im Immunserum in den Verdünnungen 1/10, 1/20, 1/30, 1/40, 1/50, 1/60, 1/70. Agglutination im Normalserum in den Verdünnungen 1/10, 1/20 (?). Keine Agglutination in den Verdünnungen des Immunserums 1/80, 1/90, 1/100. Keine Agglutination in den Verdünnungen des Normalserums 1/30, 1/40, 1/50, 1/60, 1/70, 1/80, 1/90, 1/100. Keine Agglutination in den beiden Kontrollen.

Bei Betrachtung der ca. 6 Stunden ungestört stehen gebliebenen Versuchsanordnung konnte keine weitere Änderung der Resultate mehr konstatiert werden. Die durch das Verfahren der Schnellagglutination erhaltenen Beläge entsprachen in ihrem Aussehen vollkommen den bei anderen Bakterien beobachteten (Rotz usw.). Es waren also die positiven Reaktionen gekennzeichnet durch einen etwa großlinsenförmigen Schleierbelag mit eingerollten Rändern (auf der Bodenkuppe der Agglutinationsgläschen), der sich durch Aufschütteln nicht mehr in die homogene Emulsion zurückverwandeln ließ, als der er sich abgeschieden hatte, während die negativen Reaktionen einen etwa um $\frac{1}{3}$ kleineren, glattrandigen Kuppenbelag aufwiesen, der durch Aufwirbeln leicht die Herstellung einer homogenen Emulsion ermöglichte. Natürlich standen die beiden Typen an den bezeichneten Grenzen einander nicht schroff gegenüber, es bildete vielmehr im Immunserum die Verdünnung $\frac{1}{80}$, im Normalserum aber die Verdünnung von $\frac{1}{30}$ einen deutlichen Übergang zwischen positiver und negativer Reaktion. Diese Übergangsniederschläge hielten die Mitte zwischen den beiden Extremen sowohl hinsichtlich ihrer Breiteausdehnung, als auch hinsichtlich ihrer Form (weniger ausgebuchteter, aber keinesfalls glatter Rand).

Daß in den Gläsern, welche positive Reaktion zeigten auch wirklich Agglutination eingetreten war, ließ sich mit Leichtigkeit durchs Mikroskop erkennen, wenn man die Gläschen aufschüttelte und einen Tropfen der Emulsion untersuchte. Schon bei schwacher Vergrößerung war der Unterschied zwischen den

agglutinierten und nicht agglutinierten Proben augenfällig. — Im negativen Bild lauter miteinander nicht in Zusammenhang oder in Berührung stehende Bazillenformen, im positiven lauter *Bulgaricus*-Gruppen, -häufchen und -Anhäufungen. Die starke Vergrößerung läßt eigentlich nur die Form der einzelnen Bakterien deutlich hervortreten, während das Phänomen der Agglutination selbst sich in der schwachen übersichtlicher beobachten läßt. Weiteren Versuchen mit den Immunseren setzte der Tod des Kaninchens No. 64 ein Ziel (Sektionsbefund: Tuberkulose). Ich prüfte nun noch vier verschiedene Normalsera auf ihre agglutinierende Kraft und fand bei ihnen die Grenze der positiven und negativen Reaktionen folgendermaßen gelagert:

Normalserum	positiv bis
1	1/20 inkl.
2	1/20 „
3	1/30 „
4	1/30 ?

Zusammenfassung.

Es war mir also nicht möglich, einen immunisatorischen Reiz auf die Versuchstiere auszuüben, der hinreichend gewesen wäre, sie zu Präzipitations- oder Anaphylaxieversuchen geeignet zu machen, doch gelang die Erzeugung von Agglutininen durch parenterale Einverleibung von abgetöteten *Bulgaricus*-Kulturen. Allerdings war die Agglutinationsfähigkeit des betreffenden Serums sehr gering. Dazudem die Agglutination kaum geeigneter erscheint, in der praktischen Yoghurtkontrolle Verwendung zu finden, muß ich meine Versuche betreffend die Heranziehung sero-diagnostischer Methoden zu der praktischen Yoghurtkontrolle als mißlungen bezeichnen.

Zum Schlusse genüge ich der angenehmen Pflicht, dem hochverehrten Vorstand der Amtlichen Milchuntersuchungsstelle in München, Herrn Overtierarzt A. Schneider, für die liebenswürdige Unterstützung, welche er meinen Untersuchungen in Rat und Tat angedeihen ließ, von Herzen zu danken. Nicht minderen Dank schulde ich Herrn Amtstierarzt Dr. W. Ernst für die Stellung des Themas und die Beaufsichtigung meiner ganzen Arbeit.

Literaturverzeichnis.

1. Abel, R., Bakteriologisches Taschenbuch.
2. Belonowsky, Influence du ferment lactique sur la flore des excréments des souris. (Ann. d. l'instit. Pasteur. 1906.)
3. Bertrand, G. u. Duchacek, Fr., Über die Einwirkung des *Bac. bulgaricus* auf verschiedene Zuckerarten. (Biochem. Zeitschr. Bd. 20. p. 100—113.)
4. Bertrand u. Weisweiler, G., Action du ferment bulgare sur le lait. (Ann. d. l'instit. Pasteur. 1906. p. 977.)
5. Citron, J., Die Methoden der Immunodiagnostik und Immunotherapie und ihre praktische Verwertung. 2. Aufl. Leipzig 1912.
6. Combe, L'autointoxication intestinale. Paris 1906.
7. Christeller, E., Zur Variabilität des *Bac. bulgaricus*. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 77. H. 1.)
8. Drescher, Die Erkennung des Rotlaufes der Schweine mittels der Präzipitationsmethode. (Sonderabdr. a. d. Kaiser Wilhelminstit. f. Landwirtsch. in Bromberg.)
9. Ernst, W., Grundriß der Milchhygiene für Tierärzte. Stuttgart (Enke).
10. Fuhrmann, Über Yoghurt. (Zeitschr. f. Untersuchg. d. Nahrungs- u. Genußmitt. 1907. p. 598—604.)

11. Gaehdgens, W., Beitrag zur Agglutinationstechnik. (München. med. Wochenschr. 1906. No. 28.)
12. —, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 25. H. 1.
13. —, Über die Beschleunigung der Agglutination durch Zentrifugieren mit besonderer Berücksichtigung der Meningokokkenagglutination. (Arch. f. Hyg. Bd. 66. p. 379.)
14. Jensen, O., Die Bakteriologie in der Milchwirtschaft. Jena (Fischer).
15. Kitt, Th., Bakterienkunde und pathologische Mikroskopie. 5. Aufl. Wien 1908.
16. Klotz, M., Über Yoghurt als Säuglingsnahrung. (Jahrb. f. Kinderheilk. 3. F. Bd. 17. Ergänzungsh. p. 1.)
17. —, Zur Bakteriologie des Yoghurts. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 21. p. 392.)
18. Kolle u. Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorganismen.
19. Kraft, Behandlung der Dyspepsien bei Tuberkulose mit Yoghurt. (München. med. Wochenschr. 1909. No. 47.)
20. Kuntze, W., Studien über fermentierte Milch. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 21.)
21. Löhnis, F., Versuch einer Gruppierung der Milchsäurebakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 18. p. 97.)
22. —, Die Benennung der Milchsäurebakterien. [Notiz zu einer Arbeit von S. A. Severin.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 22. p. 553.)
23. Luerssen, A. u. Kühn, M., Yoghurt, die bulgarische Sauermilch. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 22. p. 553.)
24. Makrinoff, S., Zur Frage der Nomenklatur des sog. *Bac. bulgaricus*. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 26. p. 374.)
25. Mereshkowsky, Über die Rolle der Mikroorganismen im Darmkanal. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 39. p. 380, 584, 696; Bd. 40. p. 118.)
26. Metchnikoff, E., La vieillesse. (Rev. scient. 1904. 2.)
27. —, Essays optimistes. Paris (A. Maloigne) 1907.
28. —, Étude sur la flore intestinale, poisons intestinaux et scléroses. (Ann. d. l'institut. Pasteur. T. 24. 1910.)
29. Müller, M., Beitrag zur Agglutinationstechnik bei Rotz. (Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1908. p. 595.)
30. Oehler, R., Über Yoghurtkontrolle. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 30. p. 149.)
31. Parlapanoff, I., Jugurt, dessen Wesen und Wert als tägliches Nahrungsmittel. Sofia 1912.
32. Pfeiffer, H., Probleme der Eiweißanaphylaxie. Jena (Fischer) 1910.
33. Pfeiler, W. u. Drescher, L., Untersuchungen über das präzipitierende Milzbrandserum. (Sonderdr. a. d. Kaiser Wilhelm-Institut f. Landwirtsch. in Bromberg.)
34. Piorkowski, M., Sitzungsber. d. Berlin. med. Gesellsch. v. 1.3 Nov. 1907; Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 21. p. 95.
35. Raysky, Schnelle Gewinnung von Präzipitinen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 77. H. 1.)
36. Schütz u. Pfeiler, Der Nachweis des Milzbrandes mittels der Präzipitationsmethode. (Arch. f. wissensch. u. prakt. Tierheilk. Bd. 38. 1912. H. 3.)
37. Severin, S. A., Einige Ergebnisse und Bemerkungen über den sog. *Bac. bulgaricus* und das Milchsäurepräparat Laktobazilline. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 22.)
38. Wladimiroff, Zitiert nach Kolle u. Wassermann. Bd. 4. 1904. p. 1049.
39. Wollmann, E., Recherches sur les microbes amylolytiques de l'intestin. (Ann. de l'institut. Pasteur. 1912.)

Weitere Untersuchungen über die Mostprotease.

Von E. Pantanelli, Dr. sc., Dr. chim.,
k. Landwirtschaftsministerium, Rom.

Beziehungen zwischen dem Vorkommen der Weinprotease und dem Reifungsgrade der Trauben.

In einer früheren Arbeit¹⁾ habe ich über die Anwesenheit eines proteolytischen Enzymes im Moste überreifer (weder edelfauler, noch rosinenartiger) Weinbeeren berichtet. Es handelte sich um 40 Tage am Draht konservierte, stark zuckerreiche, sauer- und gerbstoffarme, sizilianische Trauben. Sowohl die ganz gesunden, wie die von Schimmelpilzen oder Essigfliegenlarven befallenen Beeren ergaben die Gegenwart einer autolytischen Protease in ihrem Moste; die autolytische Eiweißzersetzung war in den ersteren kräftiger. Die Resultate waren im ganzen so übereinstimmend und günstig, daß ich bald auf die Suche nach einer autolytischen Protease im Moste normal reifer Trauben geleitet wurde, was aber erst in der Kampagne 1911 geschehen konnte.

Es standen mir damals Trauben aus der Umgebung von Modena (Oberitalien) zur Verfügung, welche in folgender Weise verarbeitet wurden:

Versuch I. Blaue, normal reife, ausgelesene Negrina-Beeren wurden den 5. Oktober 1911 mit einer Handpresse gekeltert. Der schwach rötliche Most enthielt in 100 ccm²⁾:

Gesamtsäure	14,7 ccm norm.
Zucker	16,3 g
Gesamtstickstoff	48,2 mg
Proteinstickstoff	13,0 mg
Amidstickstoff ³⁾	29,8 „

Ammoniak und Nitrate waren nicht vorhanden. Auffallend war der niedere Eiweißgehalt im Vergleich zu den nichteiweißartigen Stickstoffverbindungen; ähnliche Verhältnisse waren schon bei sizilianischen überreifen Trauben beobachtet worden.

Der Most wurde in folgende Proben verteilt:

1. 800 ccm Most + 2 ccm gesättigte, alkoholische Thymollösung;
2. 800 „ „ + 2 „ 10-proz. Kaliummetabisulfitlösung;
3. 800 „ „ auf 55° C durch dreimalige Erwärmung im thermoregulierten Wasserbade pasteurisiert. Die Proben wurden bei 18° C aufbewahrt.

	Azidität ccm norm.		Zucker g		Proteinstickstoff mg			
	zu Anfang	nach 9 Tagen	zu Anfang	nach 9 Tagen	zu Anfang	nach 3 Tagen	nach 5 Tagen	nach 9 Tagen
1.	14,7	11,99	16,4	16,3	13,0	12,1	17,74	27,80
2.	14,6	13,33	16,3	17,8	12,9	22,46	23,04	12,40
3.	14,7	14,0	16,4	16,5	13,0	13,2	13,3	13,4

Nur bei der Probe I hatte vielleicht in den ersten Tagen eine Proteolyse stattgefunden, der aber bald Kondensation folgte; bei Gegenwart von Schwefeldioxyd war diese zu Anfang sehr stark, wurde dann aber wieder durch Hydrolyse ersetzt. Ein Vergleich mit der pasteurisierten Kontrolle zeigt die enzymatische Natur dieser Synthese kupferfällbarer Stoffe. — Die Säure nahm in der Thymolprobe besonders stark ab, in der Bisulfitprobe wurde sie vielleicht

¹⁾ Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 31. 1911 p. 545—559.

²⁾ Wegen der Bedeutung der Bezeichnungen vgl. obige Arbeit.

³⁾ Nach zweistündiger Hydrolyse des proteinfreien Mostes mit Normalsalzsäure in üblicher Weise bestimmt.

zur Zuckerbildung verwandt, wie die Zunahme des Zuckergehaltes annehmen läßt.

Versuch II: Rote, normal reife U v a d o r o - Beeren wurden nach sorgfältiger Auslese den 5. Oktober 1911 gepreßt. 100 ccm des rötlichen Trubmostes enthielten:

Gesamtsäure	12,0 ccm norm.
Zucker.	14,0 g
Gesamtstickstoff	53,4 mg
Proteinstickstoff	14,5 „
Amidstickstoff	18,7 „

Der Versuch wurde parallel dem vorhergehenden ausgeführt.

	Azidität ccm norm.		Zucker g		Proteinstickstoff mg			
	zu Anfang	nach 9 Tagen	zu Anfang	nach 9 Tagen	zu Anfang	nach 9 Tagen	zu Anfang	nach 9 Tagen
1.	12,0	10,0	14,0	11,95	14,5	9,74	11,82	18,92
2.	11,9	9,3	13,9	12,25	14,4	17,42	12,40	10,50
3.	12,0	12,0	14,0	14,2	14,5	14,3	14,6	14,7

Auch hier verhielt sich der Bisulfitmost ganz anders als der mit Thymol versetzte; im zweiten Falle schlug die anfängliche Proteolyse nach 4—5 Tagen in einen synthetischen, im ersten Falle die anfängliche Synthese nach 4—5 Tagen in einen hydrolytischen Vorgang um. Säure- und Zuckergehalt nahmen in beiden Proben ab.

Versuch III. Weiße, nicht ganz reife Graticciana - Beeren wurden den 5. Oktober 1911 gekeltert. Diese schöne Tafelsorte wird im Winter aufbewahrt. Der Most enthielt in 100 ccm:

Gesamtsäure	10,7 ccm norm.
Zucker.	10,89 g
Gesamtstickstoff	68,20 mg
Proteinstickstoff	21,88 „
Amidstickstoff	15,16 „

Der Versuch wurde wie die vorhergehenden geleitet.

	Azidität ccm norm.		Zucker g		Proteinstickstoff mg			
	zu Anfang	nach 9 Tagen	zu Anfang	nach 9 Tagen	zu Anfang	nach 3 Tagen	nach 5 Tagen	nach 9 Tagen
1.	10,7	14,4	10,9	12,3	21,9	23,6	25,9	31,2
2.	10,6	14,0	10,8	12,3	21,7	20,48	28,6	28,1
3.	10,7	10,9	10,9	11,2	21,9	22,2	22,3	22,2

Proteolyse trat hier nur spurenweise und transitorisch in der Bisulfitprobe ein; sonst überwog die synthetische Tätigkeit. Säure und Zucker nahmen auch ganz erheblich zu.

Versuch IV. Rote, normal reife Scarlattina - Trauben wurden den 5. Oktober 1911 in gleicher Weise wie die oben genannten Sorten behandelt. Der Most enthielt:

Gesamtsäure	14,0 ccm norm.
Zucker.	8,91 g
Gesamtstickstoff	68,47 mg
Proteinstickstoff	26,38 „
Amidstickstoff	9,56 „
Ammoniakstickstoff	5,16 „

Auffallend war der Ammoniakreichtum dieser Trauben; es war offenbar

eine rege Amidspaltung schon im Gange. Drei Proben wurden mit diesem Moste wie oben ausgeführt.

	Azidität ccm norm.		Zucker g		Proteinstoff mg			
	zu Anfang	nach 9 Tagen	zu Anfang	nach 9 Tagen	zu Anfang	nach 3 Tagen	nach 5 Tagen	nach 9 Tagen
1.	14,0	13,3	8,9	9,8	26,4	21,9	17,12	16,92
2.	13,9	14,0	8,8	9,8	26,1	21,14	19,92	15,72
3.	14,0	14,0	8,9	9,0	26,4	26,5	26,3	26,2

Trotz der ursprünglich reichen Menge niederer Abbauprodukte setzte in beiden Proben eine kräftige Eiweißspaltung ein. Es ist aber auch wohl denkbar, daß es sich um Spaltung höherer, mit Kupferhydroxyd fällbarer oder schwerlösliche Kupferverbindungen liefernde Amide handelte¹⁾. — Die reichlich vorhandene Säure neigte zur Abnahme, der Zuckergehalt stieg während der Autolyse, war aber im ganzen auffallend niedrig. Die sonderbare Zusammensetzung dieses Mostes dürfte darin eine Erklärung finden, daß die betreffenden Weinstöcke inmitten stark gedüngter Gemüesfelder angebaut waren.

Versuch V. Dazu wurden goldgelbe, reife, sorgfältig ausgelesene *Trebbiano*-Trauben aus einer hügeligen, sonnigen Ortschaft benutzt, die gleich nach der Lese den 12. Oktober 1911 gepreßt wurden. Der Most enthielt:

Gesamtsäure	14,7 ccm norm.
Zucker	19,6 g
Gesamtstickstoff	132,0 mg
Gesamtproteinstickstoff	62,6 „
Löslicher Proteinstickstoff	32,5 „
Amidstickstoff	6,5 „
Ammoniakstickstoff	22,0 „
Nitratstickstoff	0,0 „

Bei diesen gut ausgereiften Beeren war der Stickstoffgehalt bedeutend höher als bei den vorher untersuchten Sorten aus der niederen Ebene. Sie enthielten auch viel Ammoniak und kupferfällbare, in der Hitze nicht koagulierbare, daher nicht eiweißartige Stickstoffverbindungen²⁾.

Ein Teil des Trubmostes wurde in drei Proben verteilt:

1. 500 ccm Most + 1 ccm gesättigte alkoholische Thymollösung;
2. 500 „ „ + 1 „ „ „ „ „ „ + 5 ccm konz. Natronlauge schwach alkalisch gemacht;
3. 500 ccm Most, wie oben pasteurisiert.

¹⁾ Alle Aminosäuren geben mit Kupfersulfat schwerlösliche Doppelsalze, die sich aber beim Kochen in schwach alkalischer Lösung kaum bilden können und jedenfalls nur beim Erkalten der Lösung abscheiden. Dasselbe Verhalten zeigt Asparagin.

²⁾ Propepton und Protalbumose werden von Kupfersulfat in neutraler Lösung gefällt, Deuteroalbumose und Pepton nicht. Windisch (Die chem. Vorgänge beim Werden des Weines, 1906, p. 9) fand im Weinmost eine geringe Menge koagulierbarer Eiweißstoffe, außerdem kleine Mengen mit ZnSO_4 fällbarer Albumosen und mit Phosphorwolframsäure fällbarer Peptone. Amide und Aminosäuren sind reichlicher vorhanden. Lewis (Note on the nitrogenous constituents of grape must. Agric. Journ. of Cape of Good Hope. 37. 1910. p. 445—447) fand Schwankungen im Protein- und Ammoniakgehalt verschiedener Weinsorten während der Reifung; meistens nahmen beide bei der Reifung ab, was mit meinen Beobachtungen über das Nebeneinanderwirken von proteolytischer und synthetischer Tätigkeit im Einklang steht.

	Azidität ccm norm.		Zucker g		Gesamtstickstoff stickstoff mg		Löslicher Proteinstickstoff mg	
	zu Anfang	nach 8 Tagen	zu Anfang	nach 8 Tagen	zu Anfang	nach 5 Tagen	zu Anfang	nach 5 Tagen
1.	14,7	13,06	19,5	20,4	62,6	27,52	32,5	15,44
2.	—0,3	0,0	19,3	20,4	62,0	24,70	32,2	14,32
3.	14,7	14,7	19,5	19,7	62,6	62,4	32,5	32,3

In beiden Proben setzte eine starke, in der schwach alkalischen etwas kräftigere Proteolyse ein, welche in beinahe gleichem Maße die hitzeoagulierenden Eiweißstoffe wie die kupferfällbaren, nicht koagulierenden Verbindungen betraf. — Die Säure nahm in der sauren Probe etwas ab, in der schwach alkalischen zu. Der Zuckergehalt stieg, obwohl er schon reichlich war. Im ganzen verhielten sich diese gut gereiften Beeren wie die überreifen sizilianischen Trauben.

Versuch VI. Nicht ganz reife, blaue Beeren der in der Gegend hochgepriesenen *Lambrusco*-Sorte liefernten den 17. Oktober 1911 einen Most folgender Zusammensetzung:

Gesamtsäure	10,0 ccm norm.
Zucker	17,81 g
Gesamtstickstoff	71,04 mg
Gesamtproteinstickstoff	17,70 „
Löslicher Proteinstickstoff	2,19 „
Ammoniakstickstoff	7,58 „
Nitratstickstoff	0 „

Mit diesem an löslichem Stickstoff reichen Moste wurden folgende Proben angestellt:

1. 500 ccm Most + 1 ccm ges. alkohl. Thymollösung;
2. 500 „ „ + 1 „ „ „ „ „ „ + 5 ccm konz. NaHOH
schwach alkal. gemacht;
3. 500 ccm Most + 5 ccm 10-proz. KHSO_3 ;
4. 500 „ „ , wie oben pasteurisiert.

	Azidität ccm norm.		Zucker g		Proteinstickstoff mg	
	zu Anfang	nach 7 Tagen	zu Anfang	nach 7 Tagen	zu Anfang	nach 7 Tagen
1.	10,0	9,6	17,8	17,9	19,89	16,84
2.	—0,3	0	17,6	17,5	19,70	33,14
3.	9,9	9,8	17,6	18,2	19,70	17,4
4.	10,0	10,0	17,8	17,9	19,89	19,9

Bei Gegenwart von Thymol und Bisulfit war eine schwache Proteolyse zu beobachten; in der schwach alkalischen Probe trat eine deutliche Kondensation ein. Im übrigen schien dieser Most das Gleichgewicht auch bezüglich des Säure- und Zuckergehalts erreicht zu haben.

Fassen wir die Resultate der Kampagne 1911 zusammen, so sehen wir, daß eine post mortem autolytisch arbeitende Protease im Weinmoste erst dann mit Sicherheit festzustellen ist, wenn die betreffenden Beeren bereits die vollständige Reife erreicht haben.

In der Kampagne 1912 habe ich drei diesbezügliche Versuche mit gut gereiften Trauben aus der Umgebung von Rom angestellt.

Versuch I. Blaue, normal reife C e s a n e s e - Trauben wurden den 8. Oktober 1912 gekeltert. Der Most enthielt in 100 ccm:

Gesamtsäure	10,2 ccm norm.
Zucker	18,9
Gesamtstickstoff	82,4 mg
Proteinstickstoff	21,62 „
Nichtprotein	60,8 „

Damit wurden 2 Kolben angestellt:

1. 600 ccm Most + 6 ccm 10-proz. Kaliummetabisulfitlösung;

2. 600 „ „ „ wie oben pasteurisiert.

Nach 11 Tagen (bei 20°C) war im Kolben 1 eine Entwicklung von Hefezellen zu verspüren, darum wurden wiederum 6 ccm Bisulfitlösung hinzugesetzt.

	Azidität ccm norm.		Zucker g		Proteinstickstoff mg				
	zu An- fang	nach 17 Tagen	zu Anfang	nach 17 Tagen	zu Anfang	nach 2 Tagen	nach 4 Tagen	nach 11 Tagen	nach 17 Tagen
1.	10,1	10,5	18,7	19,6	21,4	16,3	14,9	24,7	20,20
2.	10,2	10,1	18,9	18,9	21,62	21,7	21,4	21,3	21,4

Hier war in den ersten Tagen eine deutliche Proteolyse, später eine Kondensation zu beobachten. Säure- und Zuckergehalt blieben ziemlich konstant.

Versuch II. Blaue normal reife G r e c o - Trauben lieferten den 9. Oktober 1912 einen Most mit:

Gesamtsäure	8,2 ccm norm.
Zucker	19,8 g
Gesamtstickstoff	90,2 mg
Proteinstickstoff	39,3 „
Nichtproteinstickstoff	50,9 „

500 ccm dieses Mostes wurden mit 1 ccm Thymollösung, 500 ccm in üblicher Weise pasteurisiert. Die Proben standen im Thermostaten bei 25° C.

	Azidität ccm norm.		Zucker g		Proteinstickstoff mg		
	zu Anfang 12 Tagen	nach 12 Tagen	zu Anfang	nach 12 Tagen	zu Anfang	nach 2 Tagen	nach 12 Tagen
1.	8,2	8,5	19,8	21,1	39,3	18,5	32,3
2.	8,2	8,3	19,8	20,2	39,3	39,0	39,0

In der Thymolprobe wurden die Eiweißkörper rasch bis auf die Hälfte abgebaut, dann setzte aber eine Synthese kupferfällbarer Stickstoffverbindungen ein. Bemerkenswert war auch die Zuckerzunahme.

Versuch III. Aus weißen, normal reifen T r e b b i a n o - Beeren wurden Haut und Kerne sorgfältig entfernt, das Fleisch wurde dann zerquetscht und unter Thymolzusatz aufbewahrt. 100 ccm des dickflüssigen, rasch bräunenden Breies enthielten:

Gesamtsäure	12,0 ccm norm.
Zucker	13,5 g
Gesamtstickstoff	60,2 mg
Proteinstickstoff	14,1 „
Nichtproteinstickstoff	46,1 „

Mit diesem Moste wurden 4 Kolben angestellt:

1. 500 ccm Brei + 1 ccm Thymollösung;

2. 500 „ „ pasteurisiert;

3. 250 „ „ + 250 ccm Wasser + 1 ccm Thymollösung;

4. 250 „ „ + 245 „ „ + 1 „ „ + 5 ccm konz. NaOH
schwach alkalisch gemacht.

Die Proben wurden bei 25° C gehalten.

	Azidität ccm norm.		Zucker g		Proteinstickstoff mg			
	zu Anfang	nach 16 Tagen	zu Anfang	nach 16 Tagen	zu Anfang	nach 4 Tagen	nach 9 Tagen	nach 16 Tag.
1.	12,0	12,0	13,5	10,8	14,1	12,1	12,0	11,8
2.	12,0	11,9	13,5	13,3	14,1	14,2	14,4	14,0
3.	6,0	6,0	6,75	6,3	7,05	6,2	3,7	0
4.	-0,3	-0,1	6,7	7,4	7,05	8,8	10,2	12,7

Beim unverdünnten, eiweißarmen Brei aus dem Beerenfleische ging eine schwache Proteolyse vor sich, während beim mit gleichem Volumen Wasser verdünnten Brei die Eiweißkörper vollständig abgebaut wurden. Daß es sehr auf die Reaktion des Milieu ankommt, wird von der verhältnismäßig ausgiebigen Synthese bei schwach alkalischer Reaktion erwiesen.

Von den positiven Resultaten der römischen Moste ermutigt, prüften wir in der letzten Kampagne (1913) wiederum Moste aus der Umgebung von Modena, wobei allerdings die Gewinnungsmethode insofern geändert wurde, daß die Beeren mit der Hand gequetscht, 6—8 Stunden in flachen Schalen stehen gelassen und dann gepreßt wurden.

Versuch I. Unreife, blaue *Brugnola*-Beeren wurden den 23. September 1913 gepreßt; der schmutzige, trübe Most enthielt in 100 ccm:

Gesamtsäure	13,0 ccm norm.
Zucker	8,16 g
Gesamtstickstoff	58,06 mg
Proteinstickstoff	15,72 „
Nichtproteinstickstoff	42,34 „

500 ccm wurden mit Chloroform gesättigt, 500 ccm mit 5 ccm 10proz. KHSO_4 versetzt und bei 25° erhalten. Nach 3 Tagen war der Eiweißstickstoff in der ersten Probe auf 11, 24, in der zweiten auf 8,14 mg gesunken.

Die zurückgebliebenen Flüssigkeiten wurden mit gleichem Volumen Wasser unter Zusatz von Chloroform, resp. Bisulfitlösung verdünnt. Innerhalb 4 Tage fiel dann der Proteinstickstoff bei der Chloroformprobe von 5,62 auf 4,78 mg, stieg bei der Bisulfitprobe von 4,07 auf 5,34 mg. Das Gleichgewicht war offenbar bei 4—5 mg Proteinstickstoff gegenüber 25—26 mg Nicht-eiweißstickstoff in 100 ccm schon erreicht; die Verdünnung konnte unter diesen Umständen nicht viel ausmachen.

Versuch II. Ganz reife, blaue *Brugnola*-Beeren aus denselben Weinstöcken wurden den 3. Oktober 1913 wie oben behandelt. Zusammensetzung des Mostes:

Gesamtsäure	11,0 ccm norm.
Zucker	13,06 g
Gesamtstickstoff	63,5 mg
Proteinstickstoff	22,4 „
Nichtproteinstickstoff	41,1 „

Nach 3 Tagen war der Proteinstickstoff in der Chloroformprobe auf 2,52, in der Bisulfitprobe auf 4,8 mg gesunken; eine recht starke Proteolyse!

Versuch III. Reife, blaue *Covra*-Beeren wurden den 23. September wie oben behandelt. Der Most enthielt in 100 ccm:

Gesamtsäure	12,8 ccm norm.
Zucker	13,06 g
Gesamtstickstoff	64,0 „
Proteinstickstoff	23,5 „
Nichtproteinstickstoff	40,5 „

In 3 Tagen sank der Eiweißstickstoff in der Chloroformprobe auf 10,1, in der Bisulfitprobe auf 13,7 mg; mit ebensoviel Wasser unter Zusatz von Chloroform, resp. SO_2 verdünnt, sank der Proteinstickstoff innerhalb weiterer 4 Tage in der Bisulfitprobe von 6,88 auf 4,88, stieg in der Chloroformprobe von 5,05 auf 5,72 mg. Hier war das Gleichgewicht bei einem Verhältnis von 1 Teil Eiweißstickstoff zu 4 Teilen Nichteiweißstickstoff ungefähr erreicht.

Versuch IV. Most aus unreifen, resp. reifen Covra-Beeren wurde den 26. September 1913 wie oben gewonnen und mit Chloroform, resp. KHSO_4 versetzt. Im ersten Falle sank der Proteinstickstoff in 4 Tagen von 16,69 auf 4,06, im zweiten von 30,83 auf 17,45 mg.

Versuch V. Mehltaukranke, z. T. geplatzte, und gesunde, nicht ganzreife, gelbe Salamanna-Beeren wurden den 26. September gepreßt. Der Saft aus mehltaufreien Beeren oxydierte sich schneller. Zusammensetzung dieser Säfte:

	mehltaukrank	gesund
Gesamtsäure	28,8	15,2 ccm norm.
Zucker	14,51	11,53 g
Gesamtstickstoff	87,8	75,3 mg
Proteinstickstoff	39,32	28,64
Nichtproteinstickstoff	48,5	46,7 „

Infolge des Platzens hatte sich der Inhalt der mehltaubeschädigten Beeren konzentriert; auffallend hoch war ihr Säuregehalt. Wir stellten folgende Proben an:

1. 500 ccm Most mit Chloroform gesättigt;
2. 250 „ „ + 250 ccm Wasser, mit Chloroform gesättigt;
3. 125 „ „ + 375 „ „ „ „ „ „ „ „
4. 500 „ „ + 5 „ „ 10 proz. KHSO_4 .

Proteinstickstoff:

	mehltaukrank				gesund			
	1	2	3	4	1	2	3	4
Zu Anfang	39,32	19,66	9,83	38,93	28,64	14,32	7,16	28,36
nach 3 Tagen	33,98	13,20	8,14	29,20	24,72	8,70	6,60	13,20
„ 7 „	26,98	12,06	8,70	19,94	22,48	8,14	4,78	15,06

Die gesunden Beeren enthielten weniger Protease als die mehltaukranken. Die Verdünnung half nur wenig; eine günstige Wirkung hatte, wie üblich, die schweflige Säure.

Fassen wir die Resultate der letzten Kampagne zusammen, so fällt die starke Proteolyse bei allen geprüften Mosten auf. Da es sich um physiologisch kaum reife Beeren handelte (vielleicht waren sie noch weniger reif als die 1911 er Trauben), so dürfte das unzweifelhafte Überwiegen der Eiweißzersetzung auf der Bildung einer kräftigen Protease während der Mostbereitung beruhen. In den vorigen Jahren hatten wir die Beeren gemahlen und den Trubmost sofort ausgepreßt, wodurch die Säfte aller Fleischzellen zusammenfließen und der Gerbstoff der äußeren Zellagen sich auf die ganze Flüssigkeit sofort verteilte. In der letzten Kampagne ließen wir dagegen die mit der Hand leicht gequetschten Früchte mehrere Stunden in flachen Wannen an der Luft liegen, wobei das Fruchtfleisch langsam abstarb und eine Enzymaktivierung vor dem Vermischen mit Gerbstoff stattfinden konnte.

Aus demselben Grunde liefern überreife Weinbeeren proteasehaltige Säfte, beim langsamen Absterben des untermalmten Fruchtfleisches hat die Protease Zeit, sich aus einem vermutlichen Zymogen im Protoplasma zu bilden. Unreife Beeren können auch proteolytisch tätige Preßsäfte liefern,

wenn sie in entsprechender Weise behandelt werden; sonst können nur physiologisch reife Beeren proteasenhaltige Säfte liefern.

Es ist übrigens auch denkbar, daß bei reichem Sauerstoffzutritt zu den langsam absterbenden Fruchtgeweben die Gerbstoffe eine Oxydation erleiden — wie die starke Bräunung des Breies schon anzeigt — wodurch ihre eiweiß-fällende und enzymwidrige Wirkung vermindert wird, oder daß Gerbstoff das Zymogen durch Ausflockung denaturiert und seine Aktivierung verhindert, das fertige Enzym aber nur teilweise hemmt.

Jedenfalls dürften wir an der Tatsache festhalten, daß unreife oder knapp reife Weinbeeren die Protease im Proenzymzustande, gut ausgereifte und noch mehr überreife Beeren das Enzym in bereits aktivem Zustande enthalten.

Unlöslichkeit der Mostprotease.

War der Nachweis der autolytischen Eiweißzersetzung im Most normal reifer Weinbeeren schwierig, so wurde die Aufgabe noch viel schwieriger, wenn es sich darum handelte, diese enzymatische Wirkung von den übrigen Mostwirkungen zu trennen.

Zu diesem Zwecke wurde zunächst 1 Liter desselben Cesanese-Mostes, welcher zum Versuch I, 1912, gedient hatte, nach Zusatz von 10 ccm KHSO_3 -Lösung der Autolyse übergeben.

Die ursprünglichen 21,4 mg Proteinstickstoff (in 100 ccm) waren nach 2 Tagen auf 16,3 mg gesunken. Dann wurde der reiche Bodensatz zentrifugiert, durch Wasserzusatz und Abschleudern wiederholt gewaschen, schließlich mit 10 ccm viermal normaler Weinsäure und Wasser auf 100 ccm gebracht. Eine Hälfte dieses verdünnten Breies wurde dann auf 55° C im thermoregulierten Wasserbade eine Stunde lang erwärmt.

Je 90 ccm der trubbefreiten, eiweißfreien, leicht opaleszierenden Mostflüssigkeit wurden mit je 10 ccm des rohen, resp. pasteurisierten Bodensatzbreies vermischt, mit Chloroform gesättigt und bei 25° C aufbewahrt. Nach zwei Tagen war im Gemisch mit rohem Bodensatz der Proteinstickstoff von 16,3 auf 14,8 gesunken, im Gemisch mit pasteurisiertem Bodensatz war aber unverändert geblieben.

Trotz dieses negativen Resultates wurden 300 ccm der klaren Flüssigkeit mit Ammonsulfat gesättigt. Nach 3 Tagen hatte sich eine so verschwindend kleine Menge feinflockigen Niederschlags abgesetzt, daß ich auf eine Verarbeitung verzichten mußte. Weitere 300 ccm wurden mit dreimal so viel 95-proz. Alkohol vermischt. Der ziemlich reiche Niederschlag wurde nach 6 Stunden abgeschleudert und mit 60-proz. Alkohol auf der Zentrifuge gewaschen, dann in 30 ccm Wasser suspendiert, denn es löste sich ein sehr geringer Teil.

Je 10 ccm dieser Suspension wurden mit je 10 ccm des erwähnten rohen, resp. pasteurisierten Bodensatzbreies vermischt und mit Chloroform gesättigt. Nach 2 Tagen (bei 25° C) war der Proteinstickstoff von 16,3 auf 15,0 gesunken, resp. auf 16,8 mg gestiegen.

Ein ähnlicher Versuch wurde mit Most aus weißen, den 12. Oktober 1912 gekelterten Ottonico-Trauben angestellt. Es enthielten 100 ccm:

Gesamtsäure	9,2 ccm norm.
Zucker	12,2 g
Proteinstickstoff	16,9 mg

Nach 13 Tagen bei 25° C war der Proteinstickstoff auf 10,5 mg gesunken. Von 1000 ccm dieses autolysierten Mostes wurden Bodensatz und klare Flüssigkeit in gleicher Weise wie im vorigen Versuche getrennt und verarbeitet. Die kolloidtrübe, eiweißfreie Flüssigkeit war aber auf den Eiweißgehalt des pasteurisierten Bodensatzes unwirksam; ebenso wirkungslos waren die Ammonsulfatfällung, die in diesem Falle etwas reichlicher war und angewandt werden konnte und die Alkoholfällung. Wurde aber roher Bodensatzbrei angewandt, so erhielt ich eine, und zwar in den drei Fällen gleiche Abnahme des kupferfällbaren Stickstoffes von 10,5 auf 8,0 mg pro 100 ccm in 7 Tagen bei 25° C.

Zu einem dritten Versuch wurde Most aus reifen, blauen Greco-Trauben verwandt, welche vom 8. Oktober bis zum 25. Oktober 1912 konserviert waren. 100 ccm enthielten:

Gesamtsäure	8,2 ccm norm.
Zucker	19,5 g
Proteinstickstoff	48,8 mg

Gleich nach dem Pressen wurde der Trubsatz abgeschleudert und gewaschen. Die übrigbleibende, kolloidtrübe Flüssigkeit war vollständig eiweißfrei, wurde mit Natronlauge bis auf schwach alkalische Reaktion und zu $\frac{1}{10}$ des Volumens mit gesättigter BaCl_2 -Lösung versetzt. Es entstand ein voluminöser, flockiger Niederschlag, der bestimmt alle vorhandenen Enzyme hatte mitreißen dürfen; er enthielt allerdings nur 1,5-proz. Stickstoff.

Die Fällung wurde sofort abgeschleudert und mit $\frac{1}{100}$ norm. Natronlauge auf der Zentrifuge gewaschen, dann sogleich mit norm. Schwefelsäure bis auf schwach saure Reaktion zerlegt. Nach 24 Stunden wurde filtriert und das klare, braunschwarze Filtrat als Enzymlösung auf das rohe, resp. pasteurisierte Bodensatzbrei bei 25° C einwirken lassen. Nach 7 Tagen war aber noch keine Wirkung zu verzeichnen, denn es war im Gemisch mit pasteurisiertem Brei der Eiweißgehalt konstant geblieben, im Gemisch mit rohem Brei von 48,8 auf 36,2 mg pro 100 ccm gesunken.

Diese Ergebnisse führen zum Schlusse, daß im klaren, d. h. eiweißfreien Anteil des Weinmostes kein proteolytisches Enzym vorhanden ist. Das autolytisch wirkende Agens muß sich im Trubsatz selbst vorfinden und seine Trennung vom Gerbstoffeiweißniederschlag mittels Wasser dürfte als unmöglich betrachtet werden.

Es wurde noch mit anderen Lösungsmitteln, und zwar mit Glycerin, Kochsalzlösung und verdünnter Lauge gearbeitet, um das Enzym in Lösung zu bringen. Der erste Versuch in dieser Richtung wurde den 17. Oktober 1911 mit eiweißreichen Hülsen von reifen Lambrusco-Beeren angestellt, deren je 1 kg nach der Kelterung mit je 1 Liter Chloroformwasser, 10 proz. Kochsalzlösung, 90-proz. Glycerin vermischt wurden. Nach 24-stündigem Verweilen bei Zimmertemperatur wurden die drei Gemische durch Koliertuch gepreßt und weitere 10 Tage bei 25° C sich selbst überlassen. Der Proteinstickstoff wurde diesmal nach Fällung mit Zinksulfat und Natronlauge bestimmt, weil die Kupfermethode wegen des hohen Gerbstoff- und Farbstoffgehaltes versagte.

Proteinstickstoff	Wassergemisch	Kochsalzgemisch	Glyzeringemisch
Anfangsgehalt	15,2	18,0	14,4
Schlußgehalt	15,2	9,0	16,8

Glyzerin hielt die Auslösung von Eiweißstoffen aus den Beerenschalen etwas zurück, Kochsalz dagegen beförderte sie deutlich (Gegenwart von Globulin); autolytisch wurde Eiweiß bei Kochsalzgegenwart bis auf die Hälfte abgebaut, bei Glyzerinegegenwart fand eine schwache Rückbildung zinkfällbarer Verbindungen statt; im Wassergemisch war das Enzym untätig.

Es wurden außerdem einerseits die Trubsätze von je 500 ccm derselben Extrakte durch Abschleudern getrennt, möglichst gewaschen und mit viermal normaler Weinsäure auf 50 ccm gebracht, anderseits die klaren Flüssigkeiten einer fraktionierten Fällung mit Alkohol unterworfen. Die Fällungen wurden bei einem Gehalte von 50, resp. 75 Vol.-proz. Alkohol gesammelt, mit 50, resp. 75-proz. Alkohol gewaschen und in je 30 ccm Wasser wieder verteilt, wo sie sich zum geringsten Teile wieder auflösten. Je 10 ccm dieser sechs Suspensionen wurden als Enzympräparate auf 10 ccm des rohen, resp. pasteurisierten Bodensatzbreies bei 25° C einwirken lassen. Wir bestimmten den Proteinstickstoff in je 10 ccm nach der Zinkmethode, in der Tabelle ist aber der Proteinstickstoff der ganzen Probe (20 ccm) angegeben.

Enzympräparat		Substrat	Proteinstickstoff			
aus dem	Fällung mit		im Enz.- Präp.	im Boden- satz	im Ge- mische	nach 5 Tagen
Wasserextrakt	50-proz. Alk.	roher Trubsatz	1,4	15,2	16,6	16,2
	75 " "	past. "				16,6
	50 " "	roher "	0,6	15,2	15,8	15,4
	75 " "	past. "				15,8
Kochsalzextrakt	50 " "	roher "	2,3	18,0	20,3	12,0
	75 " "	past. "				14,4
	50 " "	roher "	1,2	18,0	19,2	13,6
	75 " "	past. "				16,4
Glyzerinextrakt	50 " "	roher "	0,4	14,4	14,8	15,6
	75 " "	past. "				14,8
	50 " "	roher "	0	14,4	14,4	15,2
	75 " "	past. "				14,4

Nur bei den Präparaten aus dem Kochsalzextrakte, wo sich zinkfällbare Stoffe aus dem Trubsatz gelöst hatten, konnte die Wirkung eines gelösten Enzyms auf das pasteurisierte Eiweißtrub desselben Extraktes beobachtet werden, und zwar stieg die proteolytische Wirkung der Alkoholfällung mit dem Gehalt an zinkfällbaren Stoffen. Sonst waren die Variationen auf die Tätigkeit des im rohen Bodensatzbrei vorhandenen Enzyms zu rechnen.

Ein zweiter Versuch wurde den 13. November 1912 mit 30 Tage konservierten G r e c o - Trauben ausgeführt. Sie wurden zerrieben und teils mit ebensoviel 90 proz. Glyzerin, teils mit Normalnatronlauge bis zu schwach alkalischer Reaktion und Chloroform versetzt. Nach 2 Tagen wurde der Brei abgepreßt und der Preßsaft der Autolyse bei Zimmertemperatur übergeben. Nach weiteren 2 Tagen trennten wir klare Flüssigkeit und Bodensatz durch Abschleudern und versetzten die klare Flüssigkeit mit Alkohol bis zu einem Gehalt von 70 Proz. Die Niederschläge wurden durch Zentrifugation sofort gesammelt und gewaschen, dann in Wasser suspendiert und auf die entsprechenden, mit Weinsäure angesäuerten Trubsätze unter Chloroformzusatz einwirken lassen. Der Proteinstickstoff wurde nach der Kupfermethode in je 10 ccm des Gemisches bestimmt; die Angaben beziehen sich aber auf die ganze Probe (20 ccm).

Enzympräparat aus dem	Substrat	Proteinstickstoff			
		im Enz.- Präp.	im Boden- satz	im Ge- misch	nach 5 Tagen
Glyzerinpreßsaft	{ roher Trubsatz past. „ }	0,8	24,0	24,8	22,0 24,0
alkalischen Preßsaft	{ roher „ past. „ }	2,6	40,2	42,8	36,4 39,6

Hier auch nahm das proteolytische Vermögen in der klaren Flüssigkeit mit der Menge gelösten Eiweißes zu.

Obwohl ich die Sache nicht als erledigt betrachten kann, so zeigen doch diese Beobachtungen, daß im natürlichen Moste das proteolytische Enzym im Trubsatz, d. h. im Gerbstoffeiweißniederschlag, enthalten ist und daß es erst dann in Lösung übergeht, wenn man durch Kochsalz oder Alkalien eine teilweise Auflösung des Trubsatzes, d. h. Zerkleinerung der Gerbstoffeiweißfällung, bewirkt. Beide Erscheinungen gehen so gut parallel nebeneinander, daß man diesem proteolytischen Enzym eine beinahe eiweißartige Natur zuschreiben möchte, um so mehr, als es von 50-proz. Alkohol so gut wie vollständig gefällt und bei 55° C zerstört wird (vgl. die Temperaturkurve).

Ich mußte daher die Hoffnung aufgeben, ein eiweißfreies Enzympräparat zu bekommen.

Unter normalen Bedingungen scheint dieses autolytische Enzym vollständig absorbiert, und zwar in einem vom Wasser nicht aufzulockernden Verband zu sein. Die obenstehende Flüssigkeit, d. h. der klare Weinmost besitzt keine proteolytische Wirksamkeit.

Es geht auch aus obigen Versuchen hervor, daß Alkohol das auf Umwegen in Lösung gebrachte Enzym erheblich schädigt.

Wirkung auf fremde Eiweißkörper

wurde mit dem Bodensatzbrei und beiden Enzymsuspensionen des zuletzt erwähnten Versuches geprüft. Je 10 ccm der autolytisch wirksamen Suspensionen wurden mit 10 ccm einer etwa 50-proz. Eiereiweißlösung resp. einer Suspension geronnenen, fein zerriebenen, durch grobes Tuch kollierten Eiereiweißes gemischt. Außerdem wurden zwei Flocken Fibrin in je 10 ccm der Enzymsuspension gelegt. Weitere 10 ccm wurden vergleichsweise in Petri-Schalen und Reagenzgläsern auf 10 ccm 5-proz. Thymolgelatine geschichtet. Alle Proben waren mit Chloroform gesättigt und lagen bei 25°, die Gelatineproben bei Zimmertemperatur (14—16°).

Enzympräparat	Substrat	Proteinstickstoff			
		im Enz.-Präp.	im Eiweiß- präparat	im Gemisch	nach 5 Tagen
Bodensatzbrei	{ rohes Eiweiß geronn. „ }	24,0	7,74	31,74	33,91
Alkoholfällung aus	{ rohes „ geronn. „ }	0,8	7,02	31,02	30,74
dem Glyzerinextrakt	{ rohes „ geronn. „ }	2,6	7,74	8,54	13,13
Alkoholfällung aus dem	{ rohes „ geronn. „ }	2,6	7,02	7,82	7,14
alkal. Extrakte	{ rohes „ geronn. „ }	2,6	7,74	10,34	17,16
			7,02	9,62	6,94

Nach 5 Tagen waren die Fibrinflocken zusammengeschrunpft, gebräunt, aber kaum angegriffen; die Gelatine hatte ebenfalls das ursprüngliche Niveau genau erhalten. Proteinstickstoff wurde daher nur in je 10 ccm der Eiweißproben zurück bestimmt.

Geronnenes Eiweiß wurde von den drei Präparaten schwach angegriffen, die Albumolyse nahm mit dem Proteinreichtum und Enzymgehalt des Präparates parallel zu. Rohes Eiweiß war dagegen unangreifbar, veranlaßte sogar eine Proteinkondensation, welche wiederum mit dem Proteinreichtum (und Enzymgehalt) des Präparates parallel stieg.

Mit dem rohen Glycerin- und alkalischen Extrakte aus denselben Trauben (vgl. S. 490) wurden ähnliche Versuche angestellt. Gelatine und Fibrin blieben wiederum intakt; das Glycerinextrakt griff weder rohes noch geronnenes Eiweiß an, während der schwach alkalische Preßsaft eine schwache Wirkung auf geronnenes, fein zerriebenes Eiereiweiß hatte. Der Proteinstickstoff sank in 100 ccm der betreffenden Mischung von 36,08 auf 28,75 mg innerhalb 5 Tage bei 25° C. Rohes Eiereiweiß veranlaßte dagegen eine ausgiebige Kondensation, von 40,2 auf 46,4 mg.

Auch der Brei aus dem zum Versuch III, 1912, verwandten Beerenfleische wurde auf seine proteolytische Wirkung, und zwar bei der natürlich sauren und bei schwach alkalischer Reaktion geprüft. Gelatine und Fibrin wurden nicht angegriffen; geronnenes, fein zerriebenes Eiereiweiß erfuhr eine geringfügige Verdauung, denn es sank der Proteinstickstoff in der sauren Probe innerhalb 16 Tage bei 25° von 31,5 auf 20,36, in der alkalischen von 31,5 auf 13,24 mg.

Verwendet man anstatt des fein zerriebenen Eiweißes Blöcke oder Würfelchen von geronnenem Eiweiß, so bekommt man keine Digestion, wie ich bei verschiedenen Mostpräparaten wiederholt beobachten konnte. Es bildet sich dann eine Hautschicht von Gerbstoffeiweiß, welche offenbar das weitere Eindringen eines proteolytischen Enzyms vollständig zu verhindern vermag; außerdem dürfte das in den Trubflocken absorbierte, d. h. unlösliche Agens nur möglichst fein verteilte, massenarme Eiweißflocken beeinflussen, welche mit den Trubflocken eine Absorptionsverbindung eingehen oder irgendwie im Bereich ihrer Oberflächenkräfte geraten können. Aus demselben Grunde werden geronnenes Fibrin und feste Gelatine kaum angegriffen¹⁾.

Die autolytische Protease des Weinbeerensaftes kann daher geronnenes Eiereiweiß bei saurer Reaktion schwach, bei alkalischer etwas deutlicher angreifen; auf rohes Eiweiß, Fibrin und Gelatine ist sie unwirksam.

Verdauung des Mosteiweißes durch eigene und fremde proteolytische Enzyme.

Versuch I. Ein Most aus blauen, normal reifen, den 8. Oktober 1912 gepreßten Greco-Trauben enthielt in 100 ccm:

Gesamtsäure	8,2 ccm norm.
Zucker	19,8 g
Proteinstickstoff	39,3 mg

Ein Teil dieses Mostes wurde auf 55° dreimal im Wasserbade erwärmt. Folgende Proben wurden angestellt:

¹⁾ Diese Ergebnisse rechtfertigen eine frühere Beobachtung von Fermi und Buscalioni (dieses Centralbl. Bd. 5. 1899. p. 127), wonach Weinbeeren kein proteolytisches Enzym enthalten, da diese Forscher halbierte (?) Beeren auf Karbolgelatine mit negativem Resultate einwirken ließen.

1. 500 ccm rohen Mostes + 1 ccm gesättigte alkoholische Thymollösung;
 2. 500 „ pasteur. „ + 1 „ „ „ „ „ ;
 3. 500 „ rohen „ + 1 „ „ „ „ „ + 1 g Pepsin Merck;
 4. 500 ccm pasteur. Mostes + 1 ccm gesättigte alkoholische Thymollösung + 1 g Pepsin Merck;
 5. 500 ccm rohen Mostes + 1 ccm gesättigte alkoholische Thymollösung; + 1 g Trypsin Merck;
 6. 500 ccm pasteur. Mostes + 1 ccm gesättigte alkoholische Thymollösung; + 1 g Trypsin Merck;
- Die Proben würden bei 25° C aufbewahrt.

Gesamtsäure		Zucker		Proteinstoff			
zu Anfang	nach 12 Tagen	zu Anfang	nach 12 Tagen	zu Anfang	nach 3 Tagen	nach 12 Tagen	
1.	8,2	8,5	19,8	21,1	39,3	18,5	32,3
2.	8,2	8,2	19,8	20,2	39,3	39,0	38,8
3.	8,2	8,0	19,8	20,05	68,3	58,4	61,4
4.	8,2	8,2	19,8	20,0	68,3	68,0	66,8
5.	8,2	8,0	19,8	20,25	74,3	55,3	59,5
6.	8,2	8,2	19,8	20,2	74,3	73,5	71,5

Die Mostprotease spaltete zunächst das rohe Mosteiweiß bis auf die Hälfte, dann setzte eine ausgiebige Rückbildung kupferfällbarer Stoffe ein. Bei Pepsin- und Trypsin Gegenwart war dagegen eine auffallende Hemmung der Proteolyse zu beobachten, welche durch Pasteurisieren des Mostes nicht zu beseitigen war. Beide Enzyme tierischen Ursprunges waren auf das pasteurisierte Mosteiweiß beinahe unwirksam, Pepsin noch weniger wirksam als Trypsin. Im rohen Moste setzten beide, Pepsin noch mehr als Trypsin, die Arbeit der Mostprotease bedeutend herab. Eine schwache Kondensation war in den letzten Versuchstagen auch bei Gegenwart fremder proteolytischer Enzyme zu beobachten.

Versuch II. Blauer, reifer Cesanese lieferte den 15. Oktober 1912 einen Most mit

Gesamtsäure	9,2 ccm norm.
Zucker	18,7 g
Gesamtstickstoff	92,4 mg
Proteinstickstoff	38,2 „

Der Trubsatz wurde sofort abzentrifugiert, durch Zusatz von klarem Moste auf $\frac{1}{10}$ des ursprünglichen Volumens gebracht und teilweise pasteurisiert. Mit je 50 ccm dieser Trubs, welche je 500 ccm ursprünglichen Mostes entsprachen, wurden folgende Proben zusammengestellt:

1. 50 ccm rohen Trubs + 450 ccm Wasser + 1 ccm gesättigte alkoholische Thymollösung;
2. 50 ccm pasteur. Trubs + 450 ccm Wasser + 1 ccm gesättigte alkoholische Thymollösung;
3. 50 ccm rohen Trubs + 450 ccm Wasser + 1 ccm gesättigte alkoholische Thymollösung + 1 g Pepsin Merck;
4. 50 ccm pasteur. Trubs + 450 ccm Wasser + 1 ccm gesättigte alkoholische Thymollösung + 1 g Pepsin Merck;
5. 1 ccm rohen Trubs + 450 ccm Wasser + 1 ccm gesättigte alkoholische Thymollösung + 1 g Trypsin Merck;
6. 50 ccm pasteur. Trubs + 150 ccm Wasser + 1 ccm gesättigte alkoholische Thymollösung + 1 g Trypsin Merck;
7. 1 ccm rohen Trubs + 400 ccm Wasser + 1 ccm gesättigte alkoholische Thymollösung + 1 g Trypsin Merck + 50 ccm $\frac{1}{10}$ NaOH;
8. 50 ccm pasteur. Trub. + 400 ccm Wasser + 1 ccm gesättigte alkoholische Thymollösung + 1 g Trypsin Merck + 50 ccm $\frac{1}{10}$ NaOH;

Protein- stickstoff	1	2	3	4	5	6	7	8
Zu Anfang	38,2	38,2	67,2	67,2	73,2	73,2	73,2	73,2
nach 5 Tagen . .	28,1	38,4	44,2	49,9	34,2	45,4	17,8	43,1

Hier war die Proteolyse durch fremde Enzyme recht bedeutend, insbesondere griff Trypsin das rohe Mosteiweiß bei schwach alkalischer noch mehr als bei schwach saurer Reaktion sehr stark an. Merkwürdigerweise war hier auch das pasteurisierte Mosteiweiß vor Pepsin und Trypsin viel widerstandsfähiger als das rohe Eiweiß.

Vergleichen wir die Ergebnisse beider Versuche miteinander, so kommen wir zum Schlusse, daß im natürlichen Moste p e p s i n - u n d t r y p s i n - h e m m e n d e S t o f f e vorhanden sind; eine Verdauung des Mosteiweißes durch beide tierische Enzyme tritt nur dann ein, wenn die übrigen Mostbestandteile zum größten Teile entfernt sind¹⁾.

Um die beobachtete Widerstandsfähigkeit des pasteurisierten Mosteiweißes sicherzustellen, wurde ein weiterer Versuch ausgeführt, wo ich zentrifugierten Bodensatzbrei aus T r e b b i a n o - Moste den 30. Oktober 1912 auf ein weiteres Quantum desselben pasteurisierten Präparates einwirken ließ. Im rohen Brei waren zu Anfang 32,5 mg Proteinstickstoff pro 10 ccm, nach 8 Tagen (bei 25° C) nur noch 19,7 mg enthalten; im Gemische aus gleichen Teilen rohen und pasteurisierten Trubsatzes sank der Proteinstickstoff von 32,5 auf 26,1 mg, d. h. es löste der unerwärmte Breianteil nur sein eigenes Eiweiß, als ob das pasteurisierte Eiweiß nicht vorhanden wäre.

Bei einem ähnlichen Versuche, der später (12. November bis 19. November 1912) mit Trubsatz aus konservierten T r e b b i a n o - Trauben ausgeführt wurde, war die Autolyse des rohen Trubsatzes bei Gegenwart pasteurisierten Trubsatzes sogar noch geringer als bei Abwesenheit des letzteren.

Mit diesem Moste wurde auch versucht, das gesamte Eiweiß samt dem Enzym mit 75 Proz. Alkohol zu fällen; der Niederschlag wurde durch Zentrifugation rasch abgeschieden und mit 75-proz. Alkohol ausgewaschen, dann sofort in Wasser wieder verteilt; keine Autolyse konnte aber im Laufe von 7 Tagen bei 25° beobachtet werden.

Da diese Unwirksamkeit von enzymwidrigen Beimengungen abhängen konnte, wiederholte ich den Versuch mit abgeschleudertem und gut gewaschenem Trubsatzbrei, welcher unter 50-proz. Alkohol 21 Stunden verweilte, dann vom Alkohol befreit, in Wasser verteilt und zur Autolyse übergeben wurde. Innerhalb 9 Tagen (21. bis 30. November 1912) war aber keine Eiweißabnahme zu beobachten.

Diese Beobachtungen zeigen, daß Erwärmung auf 55° C und Alkohol-fällung das Mosteiweiß derart denaturieren, daß eine Verdauung durch die eigene Protease unmöglich, durch fremde Enzyme stark gehemmt wird. Ein solches Verhalten ist dem anderer Eiweißmischungen gerade entgegengesetzt; so werden z. B. Eier- und Serumeiweiß in geronnenem Zustande von tierischen Enzymen viel leichter verdaut.

¹⁾ Die Unverdaulichkeit des Mosteiweißes durch tierische Enzyme bei Gegenwart der übrigen Mostbestandteile dürfte die Aufmerksamkeit der Tierphysiologen erwecken; darauf ist vielleicht die abführende und verdauungsstörende Wirkung bei der Aufnahme frischen Weinsaftes zurückzuführen.

Proteasenhemmende Stoffe im Weinmoste.

Daß im Moste Substanzen enthalten sind, welche die autolytische Tätigkeit verhindern, wie es oben nach Entfernung der klaren Mostflüssigkeit wiederholt beobachtet wurde, konnte ich durch weitere Versuche feststellen.

Versuch I. In einem mit Thymol versetzten Rohmoste aus Greco-Trauben (vgl. Versuch II, 1912) war in 14 Tagen (bei 25° C) der Proteinstickstoff von 32,3 auf 22,5 mg pro 100 ccm gesunken. Nun wurde die obenstehende klare Flüssigkeit bis auf $\frac{1}{10}$ des ursprünglichen Volumens dekantiert und der Rest mit Thymolwasser auf dasselbe Volumen zurückgefüllt. Nach weiteren 9 Tagen hatte sich der Proteinstickstoff von 22,5 auf 12,3, nach 18 Tagen auf 9,3 gemindert.

Versuch II. In einem Most aus nicht ganz reifen, weißen Ottonico-Trauben nahm der Proteinstickstoff in 14 Tagen von 23,1 auf 35,9 mg zu; wir verteilten dann den Most in zwei Hälften, wovon die eine (B) von $\frac{9}{10}$ der klaren Flüssigkeit befreit und mit Thymolwasser auf das ursprüngliche Volumen zurückgebracht wurde. Der Proteinstickstoff erfuhr folgende Schwankungen:

	A (Rohmost)	B
Zu Anfang	35,9	35,9
Nach 9 Tagen	49,4	27,2
Nach 18 Tagen	45,3	23,9

Nun wurde je eine Hälfte von A und B in derselben Weise wie früher von $\frac{9}{10}$ der trubfreien Flüssigkeit befreit und das ursprüngliche Volum mit Thymolwasser wieder hergestellt A¹ und B¹. Proteinstoff:

	A	A ¹	B	B ¹
Zu Anfang	45,3	45,3	23,9	23,9
Nach 8 Tagen	42,6	36,7	18,0	16,0
Nach 16 Tagen	41,8	33,4	16,3	14,8

Hier zeigte der Rohmost eine starke Kondensation, während nach Entfernung des größten Teiles der übrigen Bestandteile der Trubsatz eine starke Proteolyse erfuhr. 32 Tage nach der Kelterung konnte der Versuch mit dem Vollmoste mit gleichem Erfolg nochmals wiederholt werden, obwohl die Protease schon stark gelähmt war; es war dann auch im Vollmoste eine schwache Proteolyse begonnen.

Versuch III. In einem Moste aus reifem Cesanese war der Proteinstickstoff in 16 Tagen von 27,5 auf 32,6 mg pro 100 ccm gestiegen. Es wurden dann 200 ccm mit Thymol weiter konserviert; von der übrigen Masse wurde der Bodensatz auf der Zentrifuge abgeschieden und gewaschen, dann in ebensovielen Proben mit Wasser, resp. mit folgenden Lösungen auf das ursprüngliche Volumen (200 ccm) gebracht:

- a) Wasser,
- b) Normalweinsäure (7,5 proz.),
- c) Invertzucker 18-proz.),
- d) Weingerbstoff (5 : 1000),
- e) Weinfarbstoff (5 : 10 000).

Bei Gegenwart von Thymol traten dann folgende Variationen ein:

Proteinstickstoff	Vollmost	a	b	c	d	e
Zu Anfang	32,6	32,6	32,6	32,6	32,6	32,6
Nach 13 Tagen	30,3	7,0	7,2	8,7	20,1	22,5

Die stärkste antiproteolytische Wirkung wurde vom Weinfarbstoff entfaltet; stark hemmend wirkte auch Gerbstoff ein, während Invertzucker nur wenig, Weinsäure gar nicht die Autolyse verhinderten. Dadurch wird gezeigt, daß die Beförderung der Eiweißspaltung nach Ersatz des klaren Mostes mit Wasser auf der Entfernung der Spaltungsprodukte weniger als auf der Beseitigung hemmender Bestandteile, vor allem des Weinfarbstoffes und des Gerbstoffes beruht.

Versuch IV wurde wie der obige mit *Trebbiano*-Most ausgeführt.

Proteinstickstoff	Vollmost	a	b	c	d	e
Zu Anfang . .	23,2	23,2	23,2	23,2	23,2	23,2
Nach 6 Tagen	12,7	5,1	5,0	5,2	18,4	23,5

Weinfarbstoff hatte auf die Hydrolyse dieses Trubsatzes aus weißen Trauben einen noch ungünstigeren Einfluß als auf die Mostprotease blauer Beeren. Im übrigen stimmte das Ergebnis mit dem des vorhergehenden Versuches überein.

Versuch V. Ein ähnlicher Versuch wurde mit Most aus sauerwurmhaltigen, nach Essigsäure stark riechenden *Cesane*-Trauben ausgeführt. Gleich nach dem Pressen (15. Oktober 1912) wurde der Bodensatz abgeschieden und gewaschen, dann mit den angegebenen Lösungen auf das ursprüngliche Volum zurückgebracht:

	Proteinstickstoff	
	zu Anfang	nach 11 Tagen
500 ccm Vollmost.	48,3	53,8
Trubsatz + $\frac{1}{10}$ norm. Weinsäure	48,3	18,9
„ + $\frac{1}{10}$ norm. Essigsäure	48,3	40,2
„ + Gerbstoff (5 : 1000) .	48,3	28,8
„ + Weinfarbstoff (5 : 10 000)	48,3	40,0

Essigsäure setzte die Proteolyse ebenso stark wie Oenocyanin herab. Gerbstoff hatte in diesem Falle einen viel geringeren Einfluß als bei den vorigen Versuchen.

Die autolytische Mostprotease wird von jenen Stoffen am meisten affiziert, womit sie in der lebenden Zelle niemals in Berührung gekommen war. Bedeutungsvolle Stoffwechselprodukte wie Invertzucker und Weinsäure, welche in der reifenden Beere das Zellplasma fortwährend durchdringen und verlassen, sind für die Mostprotease unschädlich, während Gerbstoff, Farbstoff und Essigsäure antiproteolytisch wirken.

Umgekehrt bestätigen diese Resultate den Schluß, daß die Protease während des Lebens nur im Protoplasma vorkommt; erinnern wir an ihre Unlöslichkeit und Untrennbarkeit vom plasmatischen Gerinnsel, so liegt es immer näher, daß es sich bei diesem autolytischen Enzym um eine verwickelte, mit dem Protoplasma intim verbundene Endoprotease handelt, welche ihre Arbeit in der nekrobiotischen Periode nur splitterweise eine Zeitlang fortsetzt.

Beinflussung der Mostprotease durch verschiedene Agentien.

Um den Einfluß einiger gärungsphysiologisch oder önotechnisch wichtigen Stoffe auf die Mostprotease zu untersuchen, wurde *Lambrusco*-Most den 17. Oktober 1911 nach dem Pressen absetzen lassen, dann die klare Flüssigkeit abgegossen und der Bodensatz mit den unten angegebenen Lösungen, Thymol und Wasser bis auf das ursprüngliche Volum zurück verdünnt.

Alkohol setzte schon bei 5 Proz. die Autolyse herab; bei 1 Proz. war die Hemmung vollständig.

Metabisulfit hatte bei einem Gehalte von ca. 500 mg SO_2 pro Liter die maximal günstige Wirkung schon entfaltet; bei weiterer Zunahme war die Proteolyse beeinträchtigt, doch auch bei 1,5 g SO_2 im Liter noch etwas befördert. Erst ein Gehalt von 2 g SO_2 hemmte die Autolyse vollständig. Ähnliche Erfahrungen hatten wir mit den überreifen sizilianischen Trauben gemacht. Gips, ein von süditalienischen Winzern beliebter Zusatz, beförderte

Pro 100 ccm Most Zusatz von	Proteinstickstoff	
	Zu Anfang	nach 7 Tagen (bei 20°)
10 ccm absoluten Alkohol . . .	20,64	17,4
20 " " " . . .	20,64	17,8
30 " " " . . .	20,64	19,0
40 " " " . . .	20,64	20,8
2 " 10-proz. KHSO_3 . . .	20,64	8,7
4 " 10- " " . . .	20,64	12,6
6 " 10- " " . . .	20,64	16,9
8 " 10- " " . . .	20,64	20,8
12,5 g gesättigte Gipslösung . .	20,64	14,6
25 g " " . . .	20,64	9,55
50 g " " . . .	20,64	8,42
100 g " " . . .	20,64	8,42
4 ccm 20-proz. KH_2PO_4 . . .	20,64	28,08
8 " 20 " " . . .	20,64	30,88
16 " 20 " " . . .	20,64	29,2
32 " 20 " " . . .	20,64	27,1
Kontrolle	20,64	17,4

die Proteolyse; bei einem Gehalte von 100 mg CaSO_4 im Liter war nur eine optimale Einwirkung erreicht.

Monokaliumphosphat führte dagegen schon beim Gehalt von 4 g im Liter eine erhebliche Synthese herbei, welche bei Anwesenheit von 8 g KH_2PO_4 pro Liter das Maximum erreicht hatte. Stärkere Phosphatkonzentrationen setzten die Kondensation herab, ohne jedoch die enzymatische Synthese kupferfällbarer Stoffe vollständig zu hemmen.

Bisulfit und Gips befördern daher die Autolyse des Mostproteins, führen somit zu einer Anreicherung des Mostes mit löslichen organischen Stickstoffverbindungen; Alkohol wirkt innerhalb der Gärungsgrenzen schon antiproteolytisch, Phosphat begünstigt die Synthese auf Kosten der in der Traube vorhandenen löslichen Stickstoffverbindungen; beide Stoffe führen daher eine Verarmung des Mostes an löslichem Stickstoff herbei¹⁾.

Reaktion. Ich habe in der früheren und in vorliegender Arbeit wiederholt berichtet, daß die Mostprotease bei entschieden saurer Reaktion besser als bei schwach alkalischer Reaktion arbeitet. Es handelt sich allerdings um die natürliche Mostsäure; vor zugesetzter Weinsäure verhielt sich diese Protease indifferent, Essigsäure war recht nachteilig. Mit *Lambusco*-Most wurde der Einfluß steigender Säurekonzentration nach derselben Technik wie bei den soeben erwähnten Versuchen untersucht:

Pro 100 ccm Most Zusatz von	Proteinstickstoff	
	zu Anfang	Nach 7 Tagen
10 ccm norm. Weinsäure	20,64	17,4
20 " " "	20,64	16,8
40 " " "	20,64	17,2
80 " " "	20,64	17,2
10 " " Schwefelsäure	20,64	16,6
20 " " "	20,64	17,0
30 " " "	20,64	17,4
40 " " "	20,64	17,8

¹⁾ Trotzdem kann bei Phosphatzusatz die Gärung kräftig und besser verlaufen, weil Phosphorsäure am Gärungsvorgang direkt beteiligt ist und die Hefevermehrung erheblich begünstigt.

Weinsäure hatte die maximale, übrigens sehr schwach befördernde Wirkung in 0,2 norm. Lösung; bei Schwefelsäure war eine bei 0,1 norm. H_2SO_4 die stärkste Beeinflussung schon erreicht, war dagegen in 0,4 norm. Lösung die Proteolyse etwas herabgesetzt.

Säuren, insbesondere organische Säuren werden von der Mostprotease offenbar beliebt.

Für die Wirkung der Alkalien benutzte ich denselben Trubsatz, dem Normallauge und Thymolwasser bis zum ursprünglichen Volumen des Vollmostes zugesetzt wurden.

In 100 ccm Gemisch	Proteinstoff	
	zu Anfang	nach 7 Tagen
0 ccm Normalnatronlauge	20,64	26,6
10 " "	20,64	24,9
20 " "	20,64	23,8
30 " "	20,64	21,9
40 " "	20,64	20,7

Trotz der Verdünnung mit Wasser war hier im neutralen Moste eine deutliche Kondensation zu beobachten, welche jedoch bei steigender Alkaleszenz immer schwächer wurde; bei 0,4 norm. NaOH war offenbar die Protease-tätigkeit völlig gehemmt. Eine entschieden alkalische Reaktion scheint daher die Synthese zu begünstigen; nur ist das Agens gegen Alkalien bedeutend empfindlicher als vor Säuren. Andererseits haben wir in manchen Fällen, insbesondere bei dem Most überreifer Trauben, eine Hydrolyse bei neutraler oder schwach alkalischer Reaktion beobachtet. Die Frage nach der Fortwirkung der Mostprotease bei alkalischer Reaktion muß daher offen gelassen werden.

Temperatur. Proben des bereits erwähnten Trebbiano-Mostes (p. 482) verweilten 4 Tage bei Thymolgegenwart in kleinen thermoregulierten Wasserbädern, welche auf 15°, 25°, 35°, 40°, 45° und 50° C eingestellt waren.

	Temperatur					
Proteinstickstoff	15°	25°	35°	40°	45°	50°
Zu Anfang	23,2	23,2	23,2	23,2	23,2	23,2
Nach 4 Tagen	14,3	12,8	12,4	18,8	23,0	23,4

Die optimale Temperatur lag in der Nähe von 35° C; bei 45° war keine Selbstverdauung mehr zu beobachten. 1913 habe ich den Versuch mit Most aus reifen Brugnola-Beeren wiederholt.

		Temperatur						
Proteinstickstoff	.	15°	25°	30°	35°	40°	45°	50°
Zu Anfang	. . .	22,4	22,4	22,4	22,4	22,4	22,4	22,4
Nach 4 Tagen	. .	7,8	7,0	6,2	5,7	8,3	22,0	22,6

Hier auch war die optimale Temperatur bei 35°, die maximale bei 45° schon erreicht. Um die Zerstörungstemperatur sicherzustellen, erhitze ich Proben des oben erwähnten Lambrusco-Mostes 10 Minuten lang bei verschiedenen Temperaturen im Wasserbade, dann überließ ich sie der Autolyse bei Zimmertemperatur und Thymolzusatz.

	Erhitzt auf									
Proteinstickstoff	35°	40°	45°	50°	55°	60°	65°	70°	75°	80°
Zu Anfang	20,64	20,64	20,64	20,64	20,64	20,64	20,64	20,64	20,64	20,64
nach 2 Tagen	16,84	7,58	20,06	20,70	24,70	24,70	26,10	26,60	30,88	30,24

Nach kurzer Erhitzung auf 40° war die Enzymtätigkeit bedeutend erstarkt; vielleicht hatte ich durch Erwärmen die Proenzymaktivierung beschleunigt. Eine Temperatur von 45° genügte aber schon, um die Protease unwirksam zu machen. Erwärmung bei noch höheren Temperaturen erweckte die Bildung eines die Synthese kupferfällbarer Verbindungen befördernden Enzymes; diese Erscheinung habe ich nicht weiter verfolgt.

Die niedere Lage des Optimums und Maximums bestätigt unseren früheren Schluß, daß dieses autolytische Enzym hochkomplizierter, beinahe protoplasmatischer Natur sein dürfte.

Schicksal der Mostprotease bei der Gärung.

Wir haben wiederholt berichtet, daß die Proteinbildung in den sich vermehrenden Hefezellen die Arbeit der Mostprotease maskiert¹⁾. Außerdem haben Stoffe, deren Gehalt bei der Gärung unter praktischen Bedingungen stetig zunimmt, wie Alkohol, Gerbstoff und Önocyanin, eine starke antiproteolytische Wirkung; es sollte daher die Tätigkeit der Weinprotease im gärenden Moste bald erlöschen. Dabei tritt aber das Hefetrypsin auf, welches allerdings als Endoenzym nur das Hefeprotein, nicht das außerhalb der Hefezelle liegende Mosteiweiß angreifen kann. Um diese Verhältnisse besser zu kennen, wurden Trubsatzproben gärenden Bottichen entnommen und der Autolyse vor und nach der Entfernung der Hefezellen unterworfen²⁾.

Zwei Bottiche wurden den 8. Oktober 1912 mit je 10 Dz. G r e c o - und C e s a n e s e - Traubenmaishe gefüllt; der eine (A) erhielt keinen weiteren Zusatz, der zweite (B) wurde mit 200 g Kaliummetabisulfit und an Schwefeldioxyd angepaßter Hefe nach meiner Gärmethode versetzt³⁾. Sofort nach dem Füllen entnahm ich unter kräftigem Umrühren je zwei Literproben, welche von den herumschwimmenden Schalen gleich befreit, mit Thymol versetzt und der Autolyse bei 25° übergeben wurden. Den 14. Oktober wurden beide Bottiche abgestochen; ich entnahm dann Proben des Jungweines und des zurückgebliebenen Bodensatzes. Den Gärungsgang geben folgende Zahlen an:

	Gesamtsäure (ccm norm.)		Zucker (g)		Alkohol im Jungweine	
	im Moste	im Jungweine	im Moste	im Jungweine	Vol. %	g %
A (Kontrolle) .	8,0	10,0	19,8	9,16	7,2	5,78
B (SO ₂). . . .	8,0	10,4	19,8	5,88	9,2	7,40

Der Bisulfitzusatz ergab wie üblich eine viel reinere und ausgiebigere Gärung, worauf hier nicht weiter einzugehen ist. Der Most war ganz normal zusammengesetzt und enthielt 63,4 mg Gesamtstickstoff, 21,6 mg Proteinstickstoff.

Im Jungweine waren bei Bisulfitgegenwart nur noch Hefezellen suspendiert; bei der Kontrolle schwammen die feinsten Trubflocken neben Hefezellen noch herum. Darum wurde eine Hälfte dieser Proben, ebenso wie der hefenreichen Bodensätze durch wiederholtes Schütteln und Abschleudern unter Wasserzusatz von den Hefezellen möglichst befreit, was nur unvollständig gelang, da die Trubflocken beinahe dasselbe spezifische Gewicht

¹⁾ Vgl. die Versuche der früheren Mitteilung.

²⁾ Für die gütige Überlassung dieses Materials bin ich Herrn Fritz Alker-Tivoli dankbar.

³⁾ Vgl. Rivista di viticoltura (Conegliano), 1907 u. 1908.

wie die Hefezellen hatten und mit ihrer großen Oberfläche eine Menge Hefezellen mitrissen. Der Bisulfitjungwein hinterließ bei dieser Behandlung überhaupt keinen Rückstand, bei dem Kontrollwein war der Trubsatz allerdings auch gering. Die zurückgebliebenen Trubsätze wurden mit Thymolwasser auf das ursprüngliche Volumen zurückgebracht. Die vollen Proben würden ebenfalls mit Thymol konserviert.

	Proteinstickstoff	
	zu Anfang	nach 7 Tagen
Most A	32,28	22,46
„ B (SO ₂)	30,3	20,2
Jungwein A, voll	13,2	11,9
„ A, hefefreier Trubsatz	4,5	4,3
„ B, voll	11,23	9,9
„ B, hefefreier Trubsatz	—	—
Bodensatz A, voll	49,4	46,04
„ A, hefefrei	40,7	40,6
„ B, voll	98,28	94,32
„ B, hefefrei	54,05	53,2

Die kleine Abnahme des Eiweißgehaltes im Bisulfitmoste gleich nach dem Einfüllen hing wohl von der schnellen, vom Bisulfit bewirkten Defekation ab.

Der Most enthielt eine kräftige Protease, im Jungweine ebenso wie im Bodensatz war aber davon keine Spur mehr zu erkennen; die geringfügige Selbstverdauung bei den hefefreigemachten Trubsätzen ging sehr wahrscheinlich in den noch vorhandenen, niemals vollständig zu entfernenden Hefezellen von statten.

Ein ähnlicher Versuch wurde mit schönen, goldgelben Ottonico-Trauben ausgeführt, deren Preßsaft den 11. Oktober 1912 in Gärung gesetzt wurde. Nach 7 Tagen wurden der noch ziemlich trübe Jungwein abgezogen. Da im übrigen dieselbe Untersuchungsmethode wie im vorigen Versuche befolgt wurde, so führe ich nur die Proteinwerte an.

	Proteinstickstoff	
	zu Anfang	nach 7 Tagen
Most	33,70	17,97
Jungwein, voll	12,63	10,02
„ hefefreier Trubsatz	5,48	5,15
Bodensatz, voll	61,75	55,94
„ hefefreier Trubsatz	42,12	40,35

Der Most besaß bei diesen schön reifen Trauben ein stark autolytisches Vermögen, welches aber am Ende der Hauptgärung im Trubsatz bereits verschwunden war. Die Proteinverdauung, die man im Bodensatz ebenso wie im trüben Jungwein beobachten konnte, bestand ausschließlich in der Selbstverdauung des Hefeproteins.

Nach den vorstehenden Beobachtungen dürfte die praktische Rolle der Mostprotease nur darin bestehen, eine möglichst weit getriebene Spaltung des der Hefezelle unzugänglichen Mosteiweißes am Anfang der Gärung zu bewirken. Es ist nämlich bekannt, daß Hefe nur die Spaltungsprodukte der Eiweißkörper absorbieren und benutzen kann, da erst nach dem Tode das Hefetrypsin in geringer Menge herausgelassen wird,

wie einige spärliche Angaben in der Literatur schließen lassen¹⁾. Ob das Hefetrypsin das Mosteiweiß angreifen kann, muß überdies noch geprüft werden; jedenfalls sind während der Hauptgärung die Bedingungen für ein Absterben vieler Hefezellen nicht vorhanden.

Nun sind gerade die organischen Eiweißspaltungsprodukte, vom Pepton bis zu den Amidn und Aminosäuren, die beliebtesten Stickstoffquellen für Hefezellen, während Ammoniumsalze einen viel geringeren Nährwert besitzen. Darum dürften nur die Produkte der autolytischen Eiweißspaltung im Weinmost der Hefe eine gute Stickstoffnahrung während der stürmischen Zellvermehrung zu Anfang der Gärung abliefern.

Es ist allbekannt, daß bei Mosten aus unreifen Trauben die Gärung mit Schwierigkeit in Gang zu setzen ist; unsere Beobachtungen zeigen, daß es dabei nicht nur auf die Zuckerarmut und den hohen Säuregehalt, wie es meistens angenommen wird, sondern auch auf das Fehlen der autolytischen Eiweißspaltungsprodukte ankommt. Umgekehrt setzt die Gärung bei Mosten aus vollkommen reifen Trauben rasch oder gar momentan und stürmisch ein, wie es in südlichen Ländern regelmäßig stattzufinden pflegt, wo überdies auch überreife Beeren mit gemischt werden.

In einigen Gegenden Siziliens war früher Sitte, verhältnismäßig unreife Weinpartien unter Zusatz von Feigenauskochen in Gärung zu setzen, wodurch ein an Eiweißspaltungsprodukten reicher Saft den vermehrungsbedürftigen Hefezellen dargeboten wurde.

Zusammenfassung.

1. Eine autolytisch arbeitende Protease ist im Weinmoste erst dann mit Sicherheit festzustellen, wenn die betreffenden Beeren die vollständige Reife erreicht haben. Vor diesem Zeitpunkt überwiegt im Preßsaft die enzymatische Synthese kupferfällbarer Stickstoffverbindungen oder es halten sich beide entgegengesetzten Wirkungen miteinander im Gleichgewicht, so daß der Proteingehalt scheinbar unverändert bleibt. Das Umschlagen der sauren Reaktion in eine schwach alkalische begünstigt die Synthese, die Verdünnung mit Wasser fördert ab und zu die Proteolyse.

2. Läßt man das Beerenfleisch an der Luft langsam absterben, so gewinnt auch der Most unreifer Trauben die Fähigkeit, sein Eiweiß zum großen Teil zu verdauen. Diese Erscheinung beruht auf der Gegenwart eines Zymogens in der Weinbeere, welches vom Gerbstoff leichter als das fertige Enzym denaturiert wird. Unreife oder knapp reife Weinbeeren enthalten die Protease im Proenzymzustande; gut ausgereifte und noch mehr überreife Beeren enthalten das Enzym im bereits aktiven Zustande. Physiologisch reife Beeren sind nur solche, wo fertige Autoprotease schon vorhanden ist, d. h. wo die Spaltung der eigenen Eiweißkörper die Eiweißbildung übertrifft.

3. Der klare, eiweißfreie Anteil des Weinmostes enthält kein proteolytisches Enzym. Das autolytisch wirkende

¹⁾ Buchner, Zymasegärung, 1903; Czapek, Biochemie der Pflanzen. II. 1905. p. 83.

Agens wird vom Gerbstoffeiweißniederschlage mitgerissen oder vollständig absorbiert und läßt sich davon mittels Wasser nicht trennen; es kann nur dann zum geringen Teile in Lösung übergehen, wenn man durch Kochsalz oder Alkalien eine teilweise Auflösung des Trubsatzes bewirkt. Unter normalen Bedingungen ist die Mostprotease unlöslich; Alkohol schädigt die auf Umwege in Lösung gebrachte Protease.

4. Die autolytische Protease des Weinbeerensaftes kann geronnenes Eiereiweiß bei saurer Reaktion schwach, bei alkalischer Reaktion etwas deutlicher angreifen; auf rohes Eiweiß, Fibrin und Gelatine ist sie unwirksam. Zusatz rohen Eiweißes veranlaßt im Weinsafte eine ausgiebige Kondensation kupferfällbarer Stickstoffverbindungen.

5. Im natürlichen Moste sind pepsin- und trypsinhemmende Stoffe vorhanden, eine schwache Verdauung des Mosteiweißes durch beide tierische Enzyme tritt nur dann ein, wenn die übrigen Mostbestandteile zum größten Teile entfernt sind. In rohem Moste setzen beide tierische Enzyme, Pepsin noch mehr als Trypsin, die Arbeit der Mostprotease bedeutend herab, eine Kondensation kupferfällbarer Verbindungen kann auch bei ihrer Gegenwart stattfinden. — Erwärmung auf 55° und Alkoholfällung denaturieren das Mosteiweiß derart, daß eine Verdauung durch die eigene Protease unmöglich, durch fremde Enzyme stark gehemmt wird.

6. Die Mostprotease wird von jenen Mostbestandteilen am meisten geschädigt, womit sie in der lebenden Zelle niemals in Berührung gekommen war. Bedeutungsvolle Stoffwechselprodukte, wie Invertzucker und Weinsäure, welche in der reifenden Beere das Zellplasma fortwährend durchdringen und verlassen, sind für die Mostprotease unschädlich, während Gerbstoff, Farbstoff und Essigsäure antiproteolytisch wirken. Dadurch wird gezeigt, daß die Protease während des Lebens nur im Protoplasma vorkommt. Die Beförderung der Eiweißspaltung nach Ersatz des klaren Mostes mit Wasser hängt eher von der Entfernung hemmender Mostbestandteile als von der Beseitigung der Spaltungsprodukte ab.

7. Bisulfit und Gips fördern die Autolyse des Mostproteins, führen somit zur Anreicherung des Mostes mit löslichen organischen Stickstoffverbindungen; Alkohol wirkt innerhalb der Gärungsgrenzen schon antiproteolytisch; Phosphat begünstigt die Synthese auf Kosten der in der Traube vorhandenen löslichen Stickstoffverbindungen; beide Stoffe führen daher eine Verarmung des Mostes an löslichen Stickstoff herbei.

8. Säuren, insbesondere organische Säuren, werden von der Mostprotease beliebt; ein Optimum wurde bei 0,2 norm. Weinsäure, resp. bei 0,1 norm. Schwefelsäure gefunden. Bei neutraler oder schwach alkalischer Reaktion wird meistens die Kondensation begünstigt.

9. Die optimale Temperatur liegt in der Nähe von 35°; bei 45° C ist das Maximum schon überschritten. Die niedere Lage des Temperaturoptimums und Maximums, die Empfindlichkeit vor den Zellsaftbestandteilen, die Unlöslichkeit und Untrennbarkeit vom plasmatischen Gerinnsel zeigen, daß dieses autolytische Enzym eine hochkomplizierte, mit dem Zellplasma innig verbundene Endoprotease ist, welche ihre Arbeit in der nekrobiotischen Periode nur splitterweise eine Zeitlang fortsetzt.

10. Während der Hauptgärung unter praktischen Bedingungen verschwindet die Mostprotease; ihre praktische Rolle besteht nur darin, eine möglichst weit getriebene Spaltung des der Hefezelle unzugänglichen Mosteiweißes zu bewirken. Proteasehaltige Moste aus reifen und überreifen Beeren gestatten in der Tat eine viel schnellere Hefevermehrung, daher eine viel promptere Gärung.

Weitere Anwendungen der erzielten Resultate auf praktische Fragen der Weingärung werden an anderer Stelle veröffentlicht werden.

Zum Schluß sei mir gestattet, meiner Frau *Enrica* für die stetige Hilfe zu danken.

Nachdruck verboten

Antagonism between Anions as affecting soil Bacteria.

III. Nitrogen Fixation.

By

Prof. Charles B. Lipman and Paul S. Burgess,
Berkeley, California, Agricult. Exper. Stat.

There has appeared in this Journal¹⁾ a series of five papers based on work carried out in this laboratory which have dealt with fundamental aspects of the subject of alkali salts as affecting the natural bacterial flora in a light sandy soil, from Anaheim, Cal. The experiments were designed in the first place to ascertain exactly for the soil in question and approximately for other soils, how toxic the common alkali salts—NaCl, Na₂SO₄ and Na₂CO₃ are to the more interesting and, from the agricultural point of view, more important groups of soil organisms and namely the ammonifying, nitrifying and nitrogen fixing flora in their natural condition. In the second place, they were to serve as evidence on the almost untouched field of antagonism between anions, and on the more general question of antagonism between ions as viewed from the standpoint of bacteriology. We believe that the papers cited have accomplished these objects. The present paper, written for the purpose of completing, as it were, the series mentioned, deals with the relation of salt combinations to the natural nitrogen fixing flora of the Anaheim sandy soil and furnishes a complement to the third paper of the series dealing with the toxic effect of alkali salts taken singly on nitrogen fixation. It also gives an opportunity for comparing in respect to antagonism between anions the ammonifying and the

¹⁾ Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 32. p. 58; Bd. 33. p. 305; Bd. 35. p. 647; Bd. 36. p. 383: fifth paper soon to appear.

nitrifying flora of the soil in question on the one hand, with the nitrogen fixing flora thereof on the other. Largely negative though they be, we feel more than justified in presenting these interesting data because of the striking contrast which they form when compared with the data obtained with the ammonifying and the nitrifying flora.

Owing to the sharpness with which the salts in question manifest their toxicity for the nitrogen fixing flora as demonstrated¹⁾ in one of the papers mentioned, we found in our first combinations of salts that we had not correctly gauged the toxic points of the various salts. In other words, the limits between the points of non-toxicity and the point of toxicity for the different salts are very narrow and unless concentrations are selected for the antagonism or lack of it which fall within these narrow limits one may obtain either a harmless or an acutely toxic concentration in which cases no evidence of antagonism between the ions may be observed. In experiments supplementary to those just cited on the toxicity of the alkali salts to the nitrogen fixing flora and preliminary to the work below described we determined the toxic point as closely as was possible for each of the alkali salts by employing concentrations with very small intervals. As a result we found that for the nitrogen fixing flora of the Anaheim sandy soil to be used in the antagonism work NaCl was toxic at a concentration of .4 per cent of the dry weight of the soil, Na_2SO_4 at 1.1 per Cent and Na_2CO_3 at .3 per cent.

The method employed in these experiments was in all essentials similar to that employed in the foregoing series. Briefly, it was as follows. Fifty gram portions of the Anaheim soil were distributed in tumblers, and one gram of mannite and the necessary sterile distilled water added along with the salts which were to be studied. The moistened soil was then thoroughly stirred and the tumblers were covered with Petri dish covers and placed in the incubator where they remained for four weeks at 28° to 30° C. The moisture conditions were maintained at about the optimum point by additions of sterile distilled water from time to time. At the end of the incubation period the soils were dried and ground and twenty gram portions were taken for analysis by the modified Gunning method described by one of us elsewhere²⁾.

Series I and II.

Reciprocal Series between NaCl und Na_2CO_3 .

Starting with a toxic concentration of each salt, as above indicated, two series of experiments were run to determine to what extent, if any, NaCl and Na_2CO_3 could antagonize each other and improve conditions for nitrogen fixation. The concentrations of salts employed with their arrangement as well as other explanatory data are given in tables I and II which follow.

To one accustomed to note the striking antagonism between anions which we have shown to obtain as regards the nitrifying flora of the same soil considered in the present work, it is a matter of considerable surprise to note the slight evidence of it indicated in tables I and II, if indeed it can, without reservation, be at all considered as evidence. In series I it is possible that a slight antagonism does obtain between the .3% concentration of Na_2CO_3 which is the constant quantity of that salt used throughout the series and .1% NaCl. Fixation of nitrogen does continue, however, up to and including the combination of .3 per cent Na_2CO_3 and .4 per cent NaCl beyond which it may be considered

¹⁾ Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 35. p. 647.

²⁾ Journ. Biol. Chem. Vol. 10. p. 169.

Table I.
Determination of Presence or Absence of Antagonism between Anions for N fixing flora.
NaCl versus Na_2CO_3 .

% Na_2CO_3	% NaCl	N found Mgs.	N fixed per gram mannite Mgs.	Average N fixed Mgs.
0	0	33.14	6.37	6.37
0	0	33.14	6.37	
.30	0	31.50	4.75	4.23
.30	0	30.45	3.70	
.30	.1	31.50	4.75	4.93
.30	.1	31.85	5.10	
.30	.2	29.75	3.00	3.17
.30	.2	30.10	3.35	
.30	.3	29.05	2.30	1.78
.30	.3	28.00	1.25	
.30	.4	28.35	1.60	1.95
.30	.4	29.05	2.30	
.30	.5	26.60	—0.15	.33
.30	.5	26.25	—0.50	
.30	.6	26.95	0.20	.03
.30	.6	26.60	—0.15	

Table II.
Determination of Presence or Absence of Antagonism between Anions for Nitrogen Fixing Flora.
 Na_2CO_3 versus NaCl.

% NaCl	% Na_2CO_3	N found Mgs.	N Fixed per gram mannite Mgs.	Average N fixed Mgs.
0	0	33.14	6.37	6.37
0	0	33.14	6.37	
.4	0	29.75	3.00	3.00
.4	0	29.75	3.00	
.4	.05	29.40	2.65	2.74
.4	.05	29.58	2.83	
.4	.1	29.93	3.18	3.53
.4	.1	30.63	3.88	
.4	.15	29.75	3.00	2.83
.4	.15	29.40	2.65	
.4	.2			
.4	.2	29.05	2.30	2.30
.4	.25	29.75	3.00	3.35
.4	.25	30.45	3.70	
.4	.3	29.75	3.00	3.00
.4	.3	29.75	3.00	
.4	.35	28.70	1.95	1.78
.4	.35	28.35	1.60	
.4	.4	26.95	0.20	.20
.4	.4	26.95	0.20	
.4	.45	26.60	0.15	.03
.4	.45	26.95	0.20	

as being totally inhibited. It is very interesting to note again, however, as was remarked in the paper on the toxicity of the single salts to a similar nitrogen fixing soil flora, what enormous quantities of salts that kind of organism will withstand. As judged by our results the resistance of nitrogen

fixing bacteria to the effects of alkali salts is far greater than that of any of the soil bacteria of which we have knowledge.

So far as Series II is concerned in which the toxic material employed throughout in constant quantity is NaCl the evidence of antagonism is slightly better than in its reciprocal Series I. None the less even there it cannot be accepted without reservation considering that only slightly less nitrogen is fixed when .4 per cent NaCl alone is employed than when .4 per cent NaCl + .1 per cent Na_2CO_3 are combined. As noted in some of our earlier experiments we find here again the inefficacy of a small quantity of Na_2CO_3 in the amelioration of the injury caused by .4 per cent NaCl whereas double that quantity (.1 per cent) evidently does have some slight effect in that direction. It is decidedly worthy of note further that in both series I and II the sharp decline in nitrogen fixation occurs at about the same combinations of salts namely .3 per cent Na_2CO_3 and .4 per cent NaCl, a fact which we believe speaks for the reliability of the methods employed in the experiments.

Series III and IV.

Reciprocal Series between NaCl and Na_2SO_4 .

Series III and IV were arranged similarly to the preceding series. The results obtained together with the salt concentration employed and other pertinent data are set forth in tables III and IV which follow.

Table III.

Determination of Presence or Absence of Antagonism
between Anions for Nitrogen Fixing Flora.
 Na_2SO_4 versus NaCl.

% NaCl	% Na_2SO_4	N found Mgs.	N fixed per gram mannite Mgs.	Average N fixed Mgs.
0	0	33.14	6.37	6.37
0	0	33.14	6.37	
.4	0	29.75	3.00	3.00
.4	0	29.75	3.00	
.4	.2	30.10	3.35	3.53
.4	.2	30.45	3.70	
.4	.4	28.70	1.95	2.13
.4	.4	29.05	2.30	
.4	.6	26.60	—0.15	—0.06
.4	.6	26.78	0.03	
.4	.8	25.55	—1.20	—1.03
.4	.8	25.90	—0.85	
.4	1.0	25.55	—1.20	—1.20
.4	1.0	25.55	—1.20	
.4	1.2	25.90	—0.85	—1.03
.4	1.2	25.55	—1.20	
.4	1.4	25.55	—1.20	—1.38
.4	1.4	25.20	—1.55	

The evidence of antagonism between NaCl and Na_2SO_4 or their anions is very slight indeed. In Series III it would appear that some slight evidence to that effect does exist, but it is certain that there is no such evidence in Series IV. The combinations of salts at which nitrogen fixation may be said to be at a standstill are in Series III .4 per cent NaCl and Na_2SO_4 in excess of .4 per cent and in Series IV 1.1 per cent Na_2SO_4 and NaCl at about .3 per cent.

It will be noted that the total salt concentration in the first case, at which the nitrogen fixing flora can still gather nitrogen is .8 per cent of the dry weight of the soil whereas in the second case it is equivalent to 1.3 per cent or possibly to 1.4 per cent. This difference is of course due to the far more harmless nature of Na_2SO_4 to the nitrogen fixing flora than that of the other salts. Despite this fact, it should not be overlooked that while 1.1 per cent Na_2SO_4 by itself is but slightly toxic to the nitrogen fixing flora of the soil in question an addition of 0.5 per cent NaCl to it depresses the fixation of nitrogen seriously and the addition of .1 per cent NaCl depresses it by more than 50 per cent.

Table IV.
Determination of Presence or Absence
of Antagonism between Anions for Nitrogen
Fixing Flora.
 NaCl versus Na_2SO_4 .

% Na_2SO_4	% NaCl	N found Mgs.	N fixed per gram mannite Mgs.	Average N fixed Mgs.
0	0	33.14	6.37	6.37
0	0	33.14	6.37	
1.1	0	31.85	5.10	5.54
1.1	0	32.72	5.98	
1.1	.05	30.45	3.70	4.23
1.1	.05	31.50	4.75	
1.1	.1	29.75	3.00	2.30
1.1	.1	28.35	1.60	
1.1	.2	27.62	.90	1.07
1.1	.2	28.00	1.25	
1.1	.3	27.30	.50	1.07
1.1	.3	28.35	1.60	
1.1	.4	26.95	.20	— .15
1.1	.4	26.25	— 0.50	
1.1	.5	26.60	— 0.15	.12
1.1	.5	27.12	0.38	
1.1	.6	27.30	.55	.90
1.1	.6	28.00	1.25	

We therefore have evidence in the reciprocal series III and IV of one case of slight antagonism and of another case of undoubted lack of it. Undoubtedly the concentration of the salts employed is concerned at least in part with these different manifestations. None the less, it would appear that it is impossible to obtain an antagonism between the anions of alkali salts used in toxic concentrations which can serve us practically in the encouragement of nitrogen fixation in alkali soils provided we have any right whatever to employ the behavior of the nitrogen fixing flora of the Anaheim soil as a criterion.

Series V and VI.

Reciprocal Series between Na_2CO_3 and Na_2SO_4 .

The remarks made in explanation of the arrangement of the foregoing series will apply as well to series V and VI except that the latter were designed to study the effects of Na_2CO_3 in combination with Na_2SO_4 each in one series to be used as a constant toxic factor and the other as a varying factor. The results are given in the following tables V and VI.

Table V.
Determination of Presence or Absence
of Antagonism between Anions for Nitrogen
Fixing Flora.
 Na_2SO_4 versus Na_2CO_3 .

% Na_2CO_3	% Na_2SO_4	N found Mgs.	N fixed per gram mannite Mgs.	Average N fixed Mgs.
0	0	33.14	6.37	6.37
0	0	33.14	6.37	
.30	0	31.50	4.75	4.23
.30	0	30.45	3.70	
.30	.2	30.45	3.70	3.97
.30	.2	30.98	4.23	
.30	.4	30.10	3.35	3.70
.30	.4	30.80	4.05	
.30	.6	29.75	3.00	3.00
.30	.6	29.75	3.00	
.30	.8	30.45	3.70	3.53
.30	.8	30.10	3.35	
.30	1.0	26.95	0.20	.20
.30	1.0	26.95	0.20	
.30	1.2	26.95	0.20	.38
.30	1.2	27.30	0.55	
.30	1.4	25.90	—0.85	— .68
.30	1.4	26.25	—0.50	

Table VI.
Determination of Presence or Absence
of Antagonism between Anions for Nitrogen
Fixing Flora.
 Na_2CO_3 versus Na_2SO_4 .

% Na_2SO_4	% Na_2CO_3	N found Mgs.	N fixed per gram mannite Mgs.	Average N fixed Mgs.
0	0	33.14	6.37	6.37
0	0	33.14	6.37	
1.1	0	31.85	5.10	5.54
1.1	0	32.72	5.98	
1.1	.05	29.75	3.00	2.83
1.1	.05	29.40	2.65	
1.1	.1	28.52	1.78	2.04
1.1	.1	29.05	2.30	
1.1	.15	28.00	1.50	.85
1.1	.15	26.95	0.20	
1.1	.2	27.55	0.55	.55
1.1	.2			
1.1	.25	26.25	—0.50	— .50
1.1	.25	26.25	—0.50	
1.1	.3	28.00	1.50	1.03
1.1	.3	27.30	0.55	
1.1	.35	25.90	—0.85	— .85
1.1	.35	25.90	—0.85	
1.1	.4	26.25	—0.50	—0.50
1.1	.4			
1.1	.45	25.55	—1.20	—1.03
1.1	.45	25.90	—0.85	

This is the only pair of the three reciprocal pairs of series described in this paper which shows absolutely no antagonism between the salts. We may say conservatively that in the other series there was at least a possibility that slight antagonism existed but in the last two series it is evident that absolutely no antagonism exists. In series V it is very interesting to note that additions of Na_2SO_4 to a constant quantity of Na_2CO_3 up to and including .4 per cent Na_2SO_4 to .3 per cent Na_2CO_3 do not augment the toxic power of the latter alone. While the figures are slightly erratic it is even probable that additions to the constant concentration of Na_2CO_3 of twice as much Na_2SO_4 as that above mentioned do not augment the toxicity of Na_2CO_3 alone. When, however, 1 per cent Na_2SO_4 is added to .3 per cent Na_2CO_3 a very sharply marked toxicity is noted and the cultures may virtually be adjudged as sterile or at least as unfit for the assimilation of atmospheric nitrogen by the soils natural flora.

In the following series however, in which Na_2SO_4 at 1.1 per cent is used in constant quantity conditions are reversed. Here we find that very small additions of Na_2CO_3 produce marked increases in the toxicity of the medium. Thus the addition to 1.1 per cent Na_2SO_4 of 0.5 per cent Na_2CO_3 reduces the the nitrogen fixation by about 50 per cent and with a farther addition of .05 per cent Na_2CO_3 the nitrogen fixation is again reduced very markedly. Beyond concentrations of 1.1 per cent Na_2SO_4 + .1 per cent Na_2CO_3 nitrogen fixation may be looked upon as being almost totally inhibited.

General Discussion.

Looking at the foregoing data as a whole, it appears that there is possible evidence of antagonism between anions in three of the six series and certainly no evidence of antagonism in the other three series. If any antagonism does take place it would seem to be restricted to combinations of Na_2CO_3 and NaCl and NaCl and Na_2SO_4 , since in neither of the series with Na_2SO_4 plus Na_2CO_3 could antagonism be noted. In general, therefore, it is very doubtful if we can without reservation claim to have established even the existence of antagonism between anions so far as the nitrogen fixing flora of the Anaheim sandy soil are concerned. It is certain that if antagonism does exist it is rather feeble. Moreover, it is further certain that in some salt combinations it does not exist at all.

An interesting phase of the subject under consideration is again revealed by the tables above given. It is the strikingly great tolerance manifested by the nitrogen fixing flora for large salt concentrations in soils. In studying the effects of the single salts on nitrogen fixation by similar flora to those above employed it was found, in work above cited, that nitrogen fixation did not cease until more than the following concentrations of salts were used respectively NaCl 1 per cent, Na_2SO_4 1.7 per cent and Na_2CO_3 .9 per cent. We are not even certain that nitrogen fixation had actually ceased beyond those concentrations. Taking, on the other hand, the concentrations which first showed a toxic effect, we found in the same work that more than the following quantities were needed NaCl .5 per cent, Na_2SO_4 1.2 per cent, Na_2CO_3 .4 per cent. Comparing these values with those given in the tables above, we find that the total amounts of salts which are toxic when they are combined are very considerably lower than when the salts are used alone, regardless of the presence or absence of possible antagonism; but when we compare the last named values with the present work the reverse is true.

In the light of this farther work it would appear that our figures for the resistance of nitrogen fixing flora to salt effects are really not so far below

those obtained by Keutner¹⁾ for *Azotobacter* as it appeared to us in the first paper on the subject, when we actually consider the concentration of the soil solution rather than the percentage of salts in the soil.

It is also noteworthy that whenever Na_2SO_4 is the salt used in constant quantity the total amount of salt necessary to produce a distinctly toxic effect varies from 1.1 per cent to 1.2 per cent, whereas in all other cases the variation is between .7 percent and .8 per cent. We find thus that in three of the series above discussed distinct toxicity is noted at the higher figure just given, whereas in the other three series it appears at the lower figure.

It will probably have been noted in the foregoing tables that actual losses of nitrogen or apparent losses occur in many of the cultures in which the salt combinations become toxic. This is probably due to denitrification, in the broad sense of the term, which seems to be induced by the presence of certain salts in particular. It is most common in cultures in which Na_2SO_4 is added in large quantities to NaCl .

Comparing the results above obtained with the nitrogen fixing flora of the Anaheim sandy soil, with those obtained with the ammonifying and the nitrifying flora of the same soil, we find the most striking contrast in the case of the latter comparison. While most marked antagonism occurs in the case of nitrification between the anions in question virtually no antagonism or at best a feeble one occurs in the case of the nitrogen fixing flora. The ammonifying flora occupy a median position. The phenomenon of antagonism between anions therefore, while of practical significance in the cases of the ammonifying and of the nitrifying flora is of no such significance for nitrogen fixing flora to judge by our results.

Summary.

1. Very slight, perhaps questionable antagonism between anions occurs for the nitrogen fixing flora of the Anaheim sandy soil when Na_2CO_3 and NaCl are mixed, whether one or the other is used as a constant toxic factor.

2. The same is true when NaCl and Na_2SO_4 are combined provided the first named salt is the constant toxic factor. It is not true when Na_2SO_4 is used as the constant toxic factor.

3. No antagonism obtains between Na_2CO_3 and Na_2SO_4 no matter how the salts are combined and no matter which of them is used as the constant toxic factor.

4. The concentrations at which nitrogen fixation ceases are lower when the salts are mixed than when they are used singly.

5. The nitrogen fixing flora differ totally in respect to antagonism between anions from the ammonifying and the nitrifying flora of the same soil.

6. The resistance of these nitrogen fixing flora however to salt effects is far greater than that of the other flora named.

¹⁾ Cited from abstract in *Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 13. p. 555.*

Bacteria of frozen Soil. III.

[New York Agricultural Experiment Station.]

By H. Joel Conn, Geneva, N. Y., U. S. A.

Mit 3 Textfiguren.

In 1910, while associated with the Cornell Agricultural Experiment Station at Ithaca, N. Y., the writer first called attention to the fact that the number of bacteria in frozen soil was greater than in unfrozen soil¹). The following winter more data were collected and all were published in a second article²) appearing in 1911. The work reported in the present article was carried on at Geneva, N. Y. during 1912—14 in order to answer some of the questions raised by the earlier work.

Summary of the earlier Work.

Two field plats in a clay loam (described as Dunkirk Clay Loam by the Bureau of Soils of the United States Department of Agriculture³), both cropped to millet, were sampled nearly thirty times during the two years. The following points were brought out by the analyses: 1. The highest counts were all made while the soil was frozen. Out of seventeen counts made from frozen soil or from soil recently thawed, all were over 10,000,000 and only four under 15,000,000 per gram; while of the forty other samples only fourteen were over 10,000,000 and but five over 15,000,000. The highest count in unfrozen soil (22,000,000) was exceeded by seven of the winter counts. 2. During the winter, the numbers of bacteria increased while the soil was well frozen but tended to decrease when it thawed. 3. In general, increases and decreases in the numbers of bacteria accompanied rises and falls, respectively, in the moisture content. In January and February 1911, however, a series of fluctuations occurred which seemed to be closely associated with the freezing and thawing of the soil, but which were plainly independent of changes in moisture content.

This relationship between the number of bacteria and the soil-moisture suggested that the increase in germ content during the winter might be due to the greater moisture content rather than to the difference in temperature. There are two ways in which this may be possible: the added water, even tho frozen, may furnish better conditions for bacterial growth; or, provided this increase in moisture is due to a capillary rise of water from lower depths during freezing, it may carry bacteria up with it, thus increasing their numbers without actual multiplication. To test out this point, a pot of soil was kept frozen with a constant moisture content of 40 per cent. The experiment was not carried on under the most satisfactory conditions, because warm weather made it necessary to employ a freezing mixture of snow and salt, which resulted in a much lower temperature than usually found in the field. A further difference from field conditions was caused by the aeration which necessarily results from the ordinary method of filling a pot with soil.

¹) Conn, H. J., Bacteria in frozen Soil. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 28. 1910. p. 422.)

²) Conn, H. J., Bacteria of frozen Soil. II. (Ibid. Bd. 32. 1911. p. 70.)

³) Throughout this article the soil nomenclature of this Bureau has been adopted. The soils mentioned are described in the Soil Surveys of Ontario and of Tompkins counties, New York, published by this Bureau. They are all glacial lake bottom soils; see Fairchild, New York State Museum, Bul. 127.

The results were inconclusive. An increase in germ content was shown while the soil was frozen, but it was a much smaller increase (from 11,000,000 to 19,000,000) than that observed under field conditions, and it was not followed by a decrease after thawing. The experiment was discontinued too soon to make it certain that the numbers of bacteria would not eventually have returned to their original level.

Corroboratory evidence.

The multiplication of bacteria in frozen soil, indicated by the analyses made at Ithaca, was so unexpected that some question has been raised as to the correctness of the results. As yet, however, not much work has been done by others to test out the matter. Some unpublished work, carried on under the direction of W. M. E s t e n of the Connecticut Agricultural College, has shown the germ content of soils to increase after freezing. B r o w n and S m i t h ¹⁾ recently made a study of bacteria in frozen soil, obtaining quantitative data from eight samples of soil. All of their counts are lower than those which were found in the present work, a fact which can be at least partially explained by their use of a different culture medium and of a shorter period (three days) of incubation. Although some of their counts from frozen soil were lower than others made before freezing, the highest count of all was from soil that had been the longest frozen. This fact is particularly interesting when we consider that the bacteria which show the most striking increase in numbers after freezing grow very slowly on the plates and are largely overlooked when a short period of incubation is used.

Plan of the present work.

This work was planned to throw light upon the same two questions which it had been hoped to answer by the pot experiment in the Ithaca work. The first question is whether the increase in numbers of bacteria may not be due merely to a rise of the organisms from lower depths, brought about by ascending currents of soil-water. The second is whether it is the low temperature or the high moisture content of winter soil that favors the bacteria. To answer these questions, soil was allowed to freeze in pots, so that its moisture content could be controled and no water could rise from below. Both aerated and unaerated soil were used in these pots, the unaerated soil having been obtained by digging a block from the field and transferring it directly to a pot. It was hoped by this means to see whether the failure of the previous pot experiment to show an appreciable increase in germ content could have been due to the unnatural aerated condition of the soil.

Parallel to these pot experiments, tests were made of the same soil (Dunkirk Silty Clay Loam) in the field. In these tests also, both aerated and unaerated soil were used. The unaerated soil was merely an undisturbed field plat that had been kept fallow since 1911, the upper two or three inches having been cultivated after every rain to preserve a dust mulch. There were two portions of aerated soil, one aerated in November 1911, the other in November 1913. The former portion, after aeration, was replaced within a large tile such as used for sewer pipe, two feet in diameter and two feet long, buried in the field with only its flange above ground, and the soil so placed within it that the sub-soil was below and the surface soil above in a layer of the same depth

¹⁾ B r o w n, P. E. and S m i t h, R. E., Bacterial Activities in frozen Soils. (Iowa Agr. Exp. Station, Research Bull. 4. 1912.)

as occurs naturally in the field. This soil, like that of the unaerated plat, had been kept fallow since 1911. The second portion, aerated in 1913, consisted of surface soil alone and was replaced within a smaller cylinder, six inches deep and six in diameter, likewise sunk in the field.

A third series of tests was made in an entirely different soil, Dunkirk Fine Sand. Two spots were chosen, about fifty feet apart. One was in sod; the other at the edge of a strawberry field, in a spot that was practically free from any vegetation, either because it had been frequently cultivated or because of the poor quality of the soil. These tests were made to see whether the bacteria increase in numbers in a frozen sand as well as in a clay loam. The samples examined were unfortunately few in number.

Methods.

The methods employed have been kept as nearly as possible the same as those used in the earlier work. Soil samples were regularly taken by boring to a depth of about six inches, although some of the winter samples were taken to shigh ly less depth, because of the difficulty in boring through frozen soil. The soil thus obtained was thoroughly mixed, by sifting, if dry enough, or by stirring, if muddy. A 0.5 g portion of this sample was finally selected and shaken for two minutes with 100 c. c. of sterile water in a stoppered flask. After this shaking, the suspension was further diluted, care being taken to keep the contents of the flask in motion when any of the suspension was withdrawn. One cubic centimeter of the proper dilution was finally added to each plate. The diultions used were 1 : 100,000 and 1 : 200,000 or 1 : 200,00 and 1 : 500,000. Three or four plates of each dilution were always made.

Various media were tried in this work; but none ordinarily gave higher counts than the soil-extract gelatin described in the earlier articles. As a result the figures chosen for publication are the counts obtained upon that medium and are comparable with those of the previous work. The composition of the medium is:

Gelatin	12 %
Soil-extract	20 %
Dextrose	0.1 %

Reaction adjusted to 0.5 % normal acid to phenolphthalein.

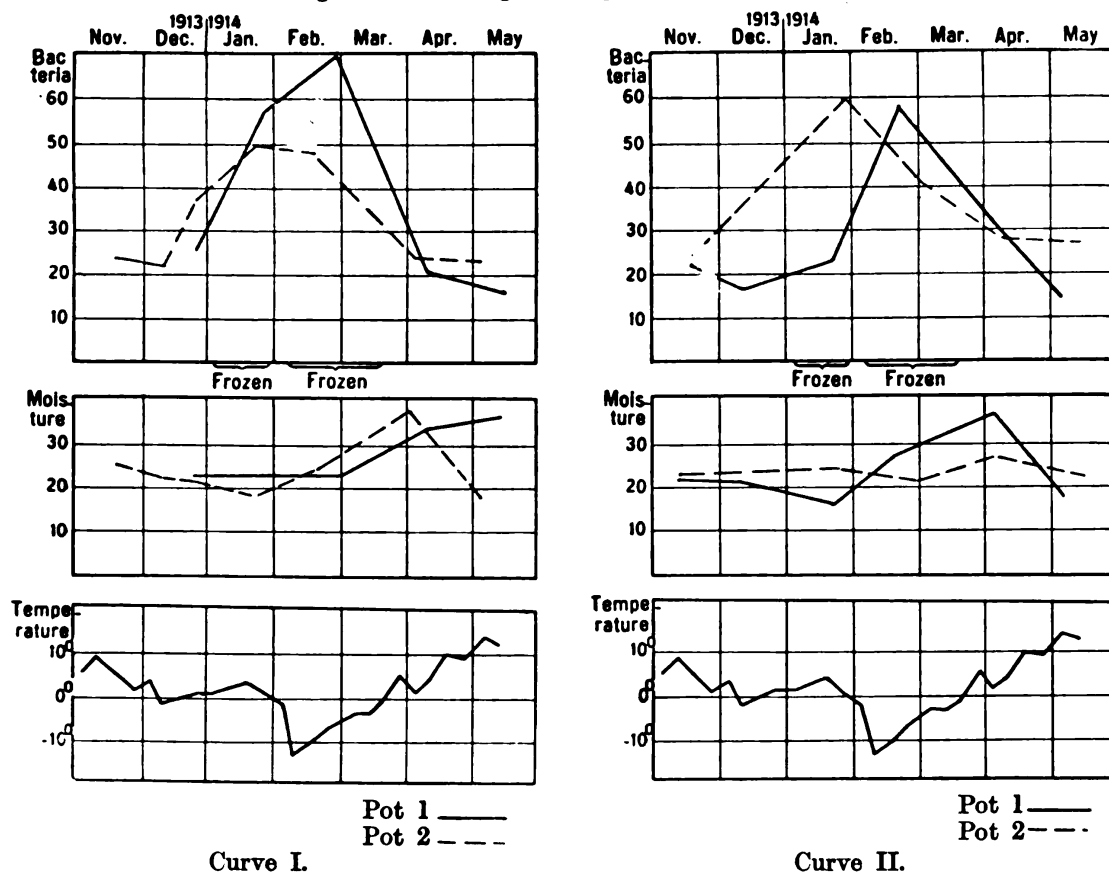
In order to obtain the soil-extract, soil was heated for an hour at one atmosphere pressure, then mixed with an equal weight of water, allowed to stand over night cold, then boiled for half an hour and filtered.

The plates were incubated at a temperature of 17.5° to 18° C for seven days before counting. In averaging the counts consideration was taken of the fact that when over one hundred colonies appeared on a plate overcrowding generally prevented the development of some of the bacteria. In such cases the greater dilution almost invariably gave the higher count, and the lower dilution was disregarded. Occasionally, however, the higher count was obtained from the lower dilution even though there were over one hundred colonies per plate, and then the counts of both sets of plates were averaged. If, on the other hand, there were less than one hundred colonies per plate, the difference between the counts obtained from the two dilutions was likely to be less than between those from parallel plates of the same dilution; so in this case the counts obtained from all the plates were averaged. In choosing the dilutions an attempt was made to obtain between fifty and one hundred colonies per plate in one or the other of the dilutions employed.

Results.

Pot Work.

This work was planned, as already mentioned, for two purposes: to control soil moisture and to prevent the rise of bacteria from lower depths. In 1912 two pots, one aerated and the other unaerated, were prepared and tested occasionally during the following winter. The soil was frozen for such short periods, however, that the experiment was unsatisfactory, and it was repeated a second year, with four pots instead of two. The soil in two of these pots was aerated, in the other two unaerated. The two pots prepared the first winter were left uncovered, so that their moisture content rose and fell much the same as the field soil. During the second winter the four pots were kept covered, and their moisture content remained constant until the thaw in March when melting snow managed to get beneath the covers.



Curve I.
Bacterial Counts in Aerated Soil, Pot Experiment, 1913—14. Numbers of bacteria expressed in millions per gram dry soil. Moisture content expressed in per cent, dry basis. Atmospheric temperature expressed in degrees Centigrade, average per week.

Curve II.
Bacterial Counts in Unaerated Soil, Pot Experiment, 1913—14. Numbers of bacteria expressed in millions per gram dry soil. Moisture content expressed in per cent, dry basis. Atmospheric temperature expressed in degrees centigrade, average per week.

The results of this work are given in Tables I and II, while the results for 1913—14 are also plotted in Curves I and II. The same graphs and tables show the moisture content of the samples (referred to dry basis). The atmospheric temperature is plotted in the two graphs. The atmospheric temperature was obtained by averaging the daily mean temperature for each week. (For temperature data, see Table V.)

Table I.
Bacterial Counts in Pot Experiment, 1912—1913.

Date	Aerated Soil		Unaerated Soil		Remarks
	Moisture Content %	Bacteria per gram dry soil	Moisture Content %	Bacteria per gram dry soil	
Nov. 16, 1912	19.5	37,000,000	19.5	25,000,000	Unfrozen
Dec. 3, 1912	23.	50,000,000	23.5	37,000,000	Unfrozen
Feb. 11, 1913	18.5	44,000,000	19.	27,500,000	Frozen 10 days
Feb. 19, 1913	34.	60,000,000	30.	57,000,000	Frozen 18 days
Apr. 15, 1913	18.5	48,000,000	18.	28,000,000	Thawed since Feb. 21.

The most significant samples taken in 1912—13 are those of Feb. 19, which were from well frozen soil. The analyses show a decided increase in germ content over all counts from the soil while unfrozen. The only other samples of frozen soil were taken on Feb. 11, ten days after the freeze and apparently before the bacteria had begun to increase in numbers. The results, therefore, bear out the previous work, but depend upon too few determinations to be conclusive. It is interesting to notice that increases and decreases in numbers of bacteria, throughout the experiment, accompany rises and falls in the moisture content.

Table II.
Bacterial Counts in Pot Experiment, 1913—14.

Date	Aerated Soil				Unaerated Soil				Length of time frozen
	Pot 1		Pot 2		Pot 1		Pot 2		
	Moisture Content	Bacteria per gram dry soil	Moisture Content	Bacteria per gram dry soil	Moisture Content	Bacteria per gram dry soil	Moisture Content	Bacteria per gram dry soil	
	%		%		%		%		
Nov. 24, 1913			25.	24,000,000	22.	21,000,000	23.	24,000,000	(Unfrozen)
Dec. 11, 1913			22.	22,000,000	21.5	16,000,000			3 days
Dec. 26, 1913	22.	26,000,000	22.	37,000,000	17.	24,000,000			(Unfrozen)
Jan. 24, 1914			19.5	50,000,000			24.5	60,000,000	15 days
Jan. 28, 1914	22.	56,000,000			26.5	58,000,000			19 days
Feb. 20, 1914			24.5	49,000,000			21.	42,000,000	15 days
Feb. 28, 1914	22.	71,000,000			37.	32,000,000			23 days
Apr. 3, 1914			38.5	34,000,000			27.	29,500,000	(Unfrozen)
Apr. 7, 1914	33.5	30,500,000			18.	16,000,000			(Unfrozen)
May 2, 1914			18.5	32,000,000			22.	25,000,000	(Unfrozen)
May 14, 1914	36.	26,500,000							(Unfrozen)

The results of the work in 1913—14 are more conclusive. During this year eight samples were taken of soil that had been frozen at least two weeks. Of these, all but one gave strikingly higher counts than those obtained in the fall or spring. The results plainly cannot be ascribed to changes in moisture content, for no increase in the latter occurred until the final thaw in March.

Considering both years' work together, we find that nine out of twelve samples of frozen soil were abnormally high in germ content. Of the three that were no higher than normal two were taken so soon after the freeze that the

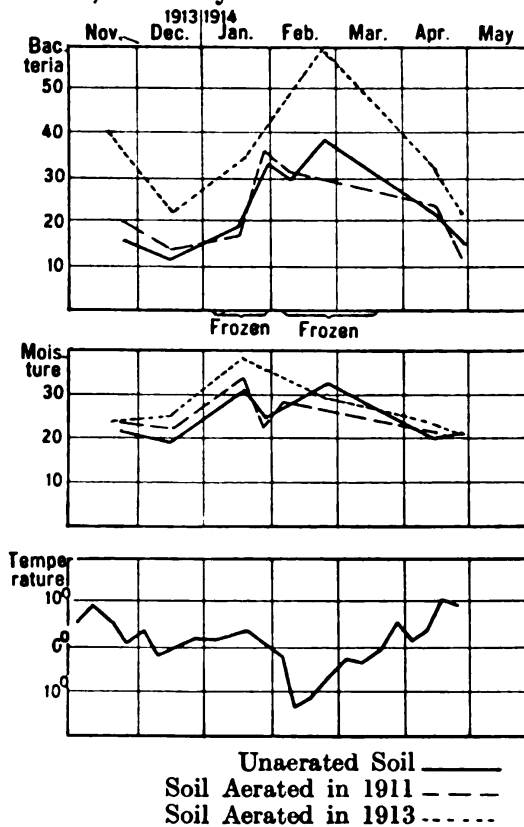
bacteria probably had not had time to increase in numbers. The chief significance of this experiment lies in the fact that the possibility of bacteria rising from lower depths during the process of freezing was excluded, thus showing conclusively that the increase in germ content could not have been due to this cause.

Field work, Dunkirk Silty Clay Loam.

The analyses of this soil (the same type as used in the pot experiments) were made during three successive winters; but only the results secured in 1913—14 have sufficient meaning to justify publication in detail. During 1911—12 no constant temperature was available for use in the incubation of the plates, a condition which rendered the results unreliable. Seven samples of frozen soil were taken during that winter, of which two showed between thirty-five and forty million bacteria per gram, counts which are much higher than ordinarily obtained from this soil when in an unfrozen condition. In the winter of 1912—13 the soil was unfrozen except for two short periods, and not more than six samples were taken, only two of which were obtained as much as two weeks after a freeze. One of these two counts reached the striking figure of 55,000,000 bacteria per gram.

The results for 1913—14 are worth giving in detail. During this year the weather was more favorable than the year before, samples were taken more frequently, and laboratory conditions were well controlled. As already mentioned, three series of tests were made: one from undisturbed field soil, fallow since 1911; one from aerated soil replaced in the field in November 1911 and held fallow; and the third from soil aerated in November 1913 and then replaced in the field. The results of the analyses are given in Table III. In Curve III they are plotted, together with the moisture content of the samples and the average atmospheric temperature per week.

Seven of these counts were made from frozen soil, and two others from soil that had been thawed only twenty-four hours. All but two of these nine counts were above thirty million; and these two were taken only nine days after the first freeze of the winter. None of the counts made from unfrozen soil were above thirty million except two, both from the soil aerated in 1913, one on Nov. 24, immediately after aeration, and the other on Apr. 15, when this



Curve III.

Bacterial Counts in Field Soil, Dunkirk Silty Clay Loam. Numbers of bacteria expressed in millions per gram dry soil. Moisture content expressed in per cent, dry basis. Atmospheric temperature expressed in degrees Centigrade, average per week.

soil was found to be unusually moist and to have a musty odor because of a heavy piece of burlap that had been accidentally allowed to lie over it since the thaw. These exceptions occurred under such abnormal conditions that they are easily understood and do not alter the fact that the number of bacteria usually found in frozen soil is greater than in the same soil under ordinary summer conditions.

Table III.
Bacterial Counts in Field Experiment, Dunkirk Silty Clay Loam.

Date	Un aerated		Aerated 1911		Aerated 1913		Remarks
	Moisture Content %	Bacteria per gram dry soil	Moisture Content %	Bacteria per gram dry soil	Moisture Content %	Bacteria per gram dry soil	
Nov. 24, 1913					23.5	40,000,000	Unfrozen
Nov. 26, 1913	21.5	16,000,000	23.5	20,000,000			"
Dec. 15, 1913	19.5	11,000,000	22.5	13,500,000	25.5	22,000,000	"
Jan. 16, 1914	31.	19,000,000	33.5	18,000,000	37.5	35,000,000	Frozen 9 days
Jan. 30, 1914	24.5	33,000,000	23.	34,000,000			Thawed 1 day
Feb. 7, 1914	27.5	30,000,000	28.	31,000,000			Partially frozen
Feb. 26, 1914	31.	38,000,000			30.	59,000,000	Frozen 21 days
Apr. 15, 1914	20.	21,000,000	20.5	23,000,000	23.5	32,000,000	Unfrozen
Apr. 29, 1914	20.5	16,000,000	20.	13,000,000	20.5	22,000,000	"

Field Work, Dunkirk Fine Sand.

The results of several tests in this light sandy soil are given in Table IV. Although too few to be conclusive they show distinct evidence of an increase in the germ content of a sandy soil similar to that occurring in clay. The one sample from the cultivated portion taken on Feb. 27, shows the extremely high count of 95,000,000 per gram.

Table IV.
Bacterial Counts from Dunkirk Fine Sand.

Date	Sod Soil		Cultivated Soil		Remarks
	Moisture Content %	Bacteria per gram dry soil	Moisture Content %	Bacteria per gram dry soil	
Apr. 29, 1913	16.	10,000,000			Unfrozen
Nov. 18, 1913	11.	8,000,000	9.5	9,000,000	Unfrozen
Dec. 1, 1913	10.	8,800,000	8.	7,500,000	Unfrozen
Feb. 27, 1914	34.5	57,000,000	29.	95,000,000	Frozen 22 days
Mar. 14, 1914	22.	8,000,000	33.	26,000,000	Frozen 37 days
May 9, 1914	10.	11,000,000	11.	9,000,000	Thawed 2 months

This is a very interesting fact when the ordinary low count in this soil under normal conditions is noticed. It is impossible to tell, however, whether such a great increase in numbers is usual in this soil or is an isolated case to be found only in this one sample.

Discussion.

In general the results here obtained verify the previous results but do not explain them. They show that bacteria apparently increase in numbers in frozen soil when all possibility of their being carried up from lower depths

Table V.
Atmospheric Temperature, 1912-14.
Average per week, in degrees Centigrade.

1912			1913		
November	1-8	8.5	June	1-8	17.
	9-15	9.		9-15	18
	16-23	5.5		16-23	19.5
	24-30	0.5		24-30	23.5
December	1-8	4.	July	1-8	24
	9-15	-1.		9-15	19.5
	16-23	0.		16-23	21.5
	24-31	1.		24-31	24
			August	1-8	21.5
				9-15	23.5
				16-23	20.
				24-31	19.
1913			September	1-8	24.
January	1-8	1.		9-15	24.5
	9-15	-2.		16-23	18.
	16-23	4.		24-30	16.
	24-31	1.5	October	1-8	15.
February	1-7	-8.		9-15	13.5
	8-14	-7.		16-23	11.5
	15-21	1.		24-31	8.5
	22-28	-4.	November	1-8	5.
March	1-8	-6.		9-15	8.5
	9-15	6.5		16-23	5.
	16-23	5.		24-30	0.5
	24-31	5.5	December	1-8	4.
April	1-8	6.		9-15	-1.
	9-15	9.		16-23	0.
	16-23	10.		24-31	1.
	24-30	14.5	1914		
May	1-8	18.	January	1-8	1.
	9-15	9.5		9-15	2.5
	16-23	14.5		16-23	4.
	24-31	13.5		24-31	1.5
			February	1-7	-1.
				8-14	-13.
				15-21	-10.5
				22-28	-7.
			March	1-8	-3.
				9-15	-3.5
				16-23	-1.
				24-31	6.
			April	1-8	1.5
				9-15	4.
				16-23	10.
				24-30	9.5
			May	1-8	13.5
				9-15	12.

is excluded. This increase seems to depend on the low temperature or upon freezing rather than upon an increase in soil moisture.

There is still some possibility, however, that the increase may not be an actual multiplication. Bacteria probably occur in the soil, to some extent, in masses that are too firmly bound together to be broken up by the shaking given the soil when it is diluted for plating. In such a case each colony developing on the plates represents either an isolated organism or an aggregate of two or more bacteria. It is entirely possible that the freezing may break up

these masses and thus increase the plate count without adding to the actual number of bacteria present in the soil. It is very difficult to obtain any evidence bearing on this point. The only evidence so far obtained is the fact that bacteria have generally been found to reach their highest numbers two or three weeks after freezing, while if the increase were actually due to a breaking-up of the bacterial masses in the soil, the process ought to stop as soon as the soil is completely frozen. Moreover, if this be the true explanation, it is extremely unlikely that the count immediately after the thaw would be so nearly the same as before the freeze.

If this increase in germ content is due to an actual multiplication, we must find some explanation for the phenomenon. It is strange that low temperatures should seem more favorable than higher ones for the soil microflora. The optimum temperature for nearly all the soil bacteria which the writer has isolated has proved to be between 20° and 30° C. These bacteria show greater differences, however, in respect to their minimum temperature of growth. This fact is the basis of the theory already advanced by the writer (1910). If we assume that there are two hostile classes of bacteria in the soil, one able to grow at temperatures below freezing, the other with its minimum temperature considerably higher, it is plain that sufficiently low temperatures would suppress one class and allow the other to increase with more than normal rapidity, even though these same organisms prefer higher temperatures in pure culture.

This theory ought not to be difficult to prove. If a distinct difference could be shown between the kinds of bacteria in frozen soil and those found when unfrozen, it would make this explanation seem extremely probable. No such difference, however, has been found. As the writer has elsewhere remarked¹⁾, there is a surprising similarity between the predominating bacteria found in different soils and in the same soil at different seasons. It is never the less possible, considering the crudity of present methods for classifying bacteria, that differences exist which have not been detected.

Another explanation, offered by Russell²⁾, is quite similar to this, but assumes that the hostile organisms suppressed by the low temperatures are not bacteria but larger organisms, probably protozoa. Russell, indeed, thinks it probable that the bacteria in soil are normally held in check by these protozoa, and that only after the soil has been heated, frozen, dried, or treated with antiseptics, can the bacteria multiply to the greatest possible numbers. This theory is likewise unsupported by any direct evidence. It is a particularly hard theory either to prove or to disprove, because of the difficulty in determining whether protozoa live in the soil in their active state.

If Russell's theory is correct, the increase in germ content which takes place in frozen soil is closely related to that which has been shown to occur in partially sterilized soil. Until recently the best supported explanation of the latter phenomenon was that the treatment necessary to effect partial sterilization disturbed the equilibrium of the soil bacteria and as a result allowed certain kinds to multiply abnormally. Now that Russell has proposed his protozoan theory, opinion is divided. Whichever explanation is the more probable, it is possible that the rapid increase in numbers of bacteria

¹⁾ Conn, H. J., The Distribution of Bacteria in various Soil Types. (Journ. of Amer. Soc. of Agronom. 1913. Vol. 5. p. 218.)

²⁾ Russell, E. J., The Effect of partial Sterilization of Soil on the Production of Plant Food. (Journ. of Agric. Sci. 1913. Vol. 5. p. 152—221.)

in partially sterilized soil and their multiplication in frozen soil may be due to similar causes. The improved crop-yields in the former case raise the question as to whether the increased germ content in the latter case has any practical importance. If the bacteria that multiply during the winter are favorable to plant growth, a cold winter may have a more beneficial effect on following crops than a warm one. This question leads into the unsolved problem of seasonal variation among soil bacteria. It shows the necessity of knowing what kinds of bacteria predominate at different seasons, and what influence each kind has upon plants.

Summary.

1. The number of bacteria in frozen soil is generally higher than in unfrozen soil. This fact was first noticed by the writer in 1910—11. Recently it has been observed at a different locality and in two other soils, one very different from the first. It is true not only of cropped soil, as shown in the previous work, but also of sod and fallow soil.

2. The increased number of bacteria after freezing is not due to the increase in soil moisture which usually occurs in winter.

3. The same increase in germ content may take place in potted soil, where there is no possibility that the bacteria are carried up mechanically from lower depths during the process of freezing.

4. These results have been obtained in a different laboratory and under quite different conditions from those previously reported, thus partly eliminating errors which might have crept in because of peculiarities of technique.

5. This makes it probable that there is an actual growth of bacteria in frozen soils. It has not yet been explained, however, and its influence on soil fertility is still unknown.

The different stages of this work on Bacteria of Frozen Soil have been carried on, respectively, under the direction of Dr. T. L. Lyon, Professor of Soil Technology at Cornell University, of Dr. H. A. Harding, former Bacteriologist at the N. Y. Agricultural Experiment Station, and of Dr. R. S. Breed, present Bacteriologist at this Station. Acknowledgements are made to them.

Nachdruck verboten.

The Lime-Magnesia Ratio: I. The Effects of Calcium and Magnesium Carbonates on Ammonification.

By W. P. Kelley,

Hawaii Experiment Station, Honolulu, Hawaii.

Introduction.

The lime-magnesia ratio in soils is a subject of much interest among investigators at the present time. According to Loew¹⁾ and others, the

¹⁾ Loew and May, U. S. D. A. Bur. Plant Ind. Bull. 1, 1901; Aso, Col. Agr. Tokio Bull. 4. 1902. p. 360—70; 5. 1903. p. 495—99; 6. 1904. p. 97—102; Loew and Aso, 7. 1907. p. 397—407; Also see Voelcker, Journ. Roy. Agric. Soc. Vol. 73. 1912. p. 325—38.

growth of plants is most nearly normal when calcium and magnesium are present in a definite ratio, different species requiring different ratios. Lemmermann, Einecke and Fischer¹⁾, on the other hand, concluded that this ratio exerts but little effect on plants. In water cultures using the chlorids, Gile²⁾ found that the influence exerted by the ratio of lime to magnesia depends on the concentration of these substances with respect to the other constituents in solution. When all the other nutrients were present in constant amounts, variations in this ratio from 10 : 1 to 1 : 10, in concentrations between 23 and 63 parts per 100 000 of the combined chlorids, exerted no influence on the growth of rice; whereas in concentrations between 109 and 172 parts per 100 000 the growth was best when the ratio was as 1 : 1. It would seem, therefore, that it is not only the ratio of calcium to magnesium, but also the ratio between these elements and the other constituents that must be considered. As bearing on this question Osterhout³⁾ has shown that the ratio between sodium and potassium, sodium and calcium, sodium and magnesium and sodium and ammonium exert some influence on the growth of plants. The principle underlying the lime-magnesia ratio, therefore, probably involves the question of the function of the different elements in plant growth.

In view of the great importance of biological agents in soils, it is desirable to study the lime-magnesia ratio from the standpoint of bacterial action. In this connection Löhni⁴⁾ in 1904 found that the addition of magnesium carbonate to culture solutions, as recommended by Omelianski, caused a loss of ammonia, from which he concluded that this substance is unsuited to use in nitrification studies. In 1907 Lipman and Brown⁵⁾ confirmed the results of Löhni. They found that a small loss of ammonia took place during sterilization when magnesium carbonate had been added, and that after standing 25 days the solutions had lost more than 50 per cent of the ammonia originally present. Considerable losses of ammonia were also sustained where calcium carbonate was used. Moreover, only slight nitrification took place in the solutions which contained magnesium carbonate, reaching a maximum by the sixth day, followed by denitrification, whereas active nitrification took place throughout the 25 day period of observation where calcium carbonate was used. On the other hand, Owen⁶⁾ in 1908 concluded that magnesium carbonate is better suited to the stimulation of nitrification than calcium, potassium or ammonium carbonates.

In 1907 Ashby⁷⁾ found that in the presence of magnesium carbonate, azotobacter from the Rothamsted experimental plots fixed more nitrogen in mannite solutions both in pure and mixed cultures than in the presence of calcium carbonate, and that a mixture of the two carbonates proved more effective than calcium carbonate alone. The author concluded as follows: "That magnesium carbonate not only neutralizes more effectively than calcium carbonate any trace of acidity due to foreign organisms, in the early stages of culture, but also prevents butyric fermentation, but at first it inhibits the growth of Azotobacter itself". From further investigation he found that magnesium carbonate caused a greater loss of ammonia from ammonium

¹⁾ Landw. Jahrb. Bd. 40. 1911. p. 173.

²⁾ U. S. D. A. Porto Rico Stat. Bull. Vol. 12. 1912.

³⁾ Jahrb. wiss. Bot. Bd. 46. 1908. p. 121.

⁴⁾ Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 13. 1904. p. 709.

⁵⁾ Journ. Amer. Chem. Soc. Vol. 29. 1907. p. 1358—62.

⁶⁾ Ga. Sta. Bull. 81. 1908.

⁷⁾ Journ. Agric. Sci. Vol. 2. 1907. p. 35—51.

sulphate solution than calcium carbonate. This loss, Ashby attributed to the interaction between ammonium sulphate and the carbonates, whereby ammonium carbonate was formed, which was then volatilized from the solutions. Magnesium carbonate, being much more soluble than calcium carbonate, would probably cause the formation of greater amounts of ammonium carbonate, for which reason he accounted for the greater losses with the former carbonate.

In 1907 and 1908, C. B. Lipman¹⁾ found, that in the presence of more than very low concentrations of magnesium chlorid, the ammonification of peptone by *B. subtilis* was greatly hindered, and that the simultaneous addition of varying amounts of calcium chlorid did not overcome the toxic effects. He concluded, therefore, that magnesium chlorid is toxic to the action of *B. subtilis*, and that there is no antagonism between calcium and magnesium chlorid, so far as the ammonification of peptone is concerned. It is of special interest in this connection that the magnesium salt actually proved toxic at low concentration.

In 1908 Fraps²⁾ found that the addition of calcium carbonate to a soil caused a greater stimulation to the nitrification of cotton seed meal than did magnesium carbonate, and that a mixture of these carbonates produced intermediate effects.

J. G. Lipman, Brown and Owen³⁾ observed in 1910 that the addition of one gram of calcium carbonate per 100 grams of a soil from New Jersey stimulated the ammonification of dried blood, but hindered the ammonification of cotton seed meal. On the other hand, magnesium carbonate was toxic to the ammonification of dried blood, but stimulated the ammonification of cotton seed meal. In the same year, Kellerman and Robinson⁴⁾ found that the addition of magnesium carbonate to a magnesian soil, in quantities greater than 25%, depressed nitrification, while calcium carbonate exerted a stimulating effect.

In investigations carried out in India in 1910 and 1911, C. M. Hutchinson⁵⁾ found that the addition of magnesium carbonate to full strength Omelianski solutions caused considerable loss of ammonia, but only slight losses from dilute solutions. Furthermore, neither the neutralization of the magnesium carbonate with sulphuric acid nor the synchronous addition of calcium carbonate overcame the loss. Likewise the addition of magnesium carbonate to the dilute solutions partially prevented nitrification for a few weeks, but at the end of 12 weeks the toxic effects had disappeared. With full strength solutions nitrification was greatly reduced by magnesium carbonate, and again the toxic effects were not overcome by neutralizing the magnesium carbonate. Calcium carbonate on the other hand did not interfere with nitrification.

In 1912, the writer⁶⁾ conducted a series of experiments on this subject, using two sandy soils from California. In the ammonification of dried blood 85 milligrams of ammonia nitrogen were found when 2 grams of calcium carbonate were added, and only 53.9 milligrams with magnesium carbonate, and no antagonism was observed between the two carbonates. In nitrification

¹⁾ Bot. Gaz. Vol. 48. 1908. p. 105—125; Vol. 49. 1909. p. 41—50.

²⁾ Texas Sta. Bull. 106. 1908.

³⁾ N. J. Sta. Rept. 1910.

⁴⁾ Science Vol. 32. 1910. p. 159.

⁵⁾ Memoirs Dept. Agric. India. Bact. Ser. Vol. 1. 1912.

⁶⁾ U. of Cal. Pub. Agric. Sci. Vol. 1. 1912. p. 39—49.

studies using dried blood, calcium carbonate produced about fifty per cent stimulation, but magnesium carbonate totally inhibited nitrification. In addition to preventing nitrification, magnesium carbonate also caused slight denitrification, the original nitrate content having been reduced from five milligrams per 100 to two milligrams where two grams of magnesium carbonate were added, and finally no antagonism was found between calcium and magnesium carbonates.

From the above brief review it appears that the amounts of magnesium present may exert considerable influences on bacterial action. In view of the practical importance attached to this question in relation to Hawaiian soils in which the lime-magnesia ratio is generally abnormal, the magnesium not infrequently greatly predominating, and the fact that large amounts of magnesian limestones are being applied to soils in various localities in America, an investigation of the nitrogen transformation in soils as affected by variations in this ratio has been in progress in the laboratory of the Hawaii Experiment Station for some time. In this investigation different phases of the question have been studied and results of considerable interest have been obtained. In the present paper the effects of calcium and magnesium carbonates on ammonification will be discussed.

Ammonification.

Two different nitrogenous substances were employed, dried blood and soy bean cake meal; the dried blood contained 13.29 per cent nitrogen, the soy bean cake meal 8.28 per cent.

The soils used in this investigation represent a wide range of types and conditions. No. 9 is a silty loam taken from the upland portion of Oahu and contains 9.74 percent Mn_2O_4 ; No. 292 is a sandy loam from the rice experimental grounds of the Hawaii Station and contains an unusually-high magnesium content (9.42 per cent MgO); No. 428 is a sandy loam containing a large amount of organic matter; No. 448 is a yellow clay soil; No. 461 is a clay loam previously devoted to rice culture for many years; Nos. 485 and 487 are silty and clay loams, respectively, each of which is now devoted to pineapple culture. All of these soils have originated from basaltic lava and are typical laterites.

Two grams of the nitrogenous materials and the carbonates in the amounts shown in the table were thoroughly mixed with 100 gram portions of the air dry soils, placed in tumblers, then brought to optimum moisture content by the addition of sterile water, covered with watch glasses and incubated at 28 degrees C. for 7 days, after which the ammonia was determined by distillation in the usual way. The results are shown in the following table.

Considering first the effects of calcium carbonate, it will be seen that only slight stimulation of the ammonification of either dried blood or soy bean cake meal was produced in soils No. 9, 292, 428, 448 and 487, of the ammonification of soy bean cake meal in 461, and of that of dried blood in 485. There was, however, considerable stimulation of the ammonification of dried blood in 461 and of soy bean cake meal in 485. With the addition of magnesium carbonate, the ammonification of dried blood was stimulated in every soil except 461, as was the ammonification of soy bean cake meal in 428, 448, 485. On the other hand, magnesium carbonate produced only slight effects on the ammonification of soy bean cake meal in soils Nos. 9, 292 and 461. In one case only, dried blood in soil 461, the addition of magnesium carbonate caused a decrease in the amounts of ammonia found.

Effects of Calcium and Magnesium Carbonates on the Ammonification of Dried blood and Soy bean cake meal.
(Average mgs. Ammonia Nitrogen formed per 100 grams of soil.)

Soil Portions	Carbonate added	Soil 9		Soil 292		Soil 428		Soil 448	
		Dried blood	Soy bean cake	Dried blood	Soy bean cake	Dried blood	Soy bean cake	Dried blood	Soy bean cake
1,2	None	51.9	99.1	156.9	94.1	53.4	74.3	39.3	78.1
3,4	1.0 gm. CaCO_3	54.4	103.7	160.3	97.2	52.6	79.5	42.0	80.0
5,6	2.0 gm. CaCO_3	55.4	104.8	158.9	99.5	64.4	82.4	42.7	82.5
7,8	4.0 gm. CaCO_3	56.1	103.4	160.1	96.8	61.3	88.9	44.3	88.9
9,10	1.0 gm. MgCO_3	68.0	104.1	175.0	93.9	68.6	78.5	53.6	95.1
11,12	2.0 gm. MgCO_3	70.9	103.6	163.8	95.0	93.6	82.7	67.6	98.9
13,14	4.0 gm. MgCO_3	65.9	98.7	172.	92.3	109.9	92.5	73.5	100.8
15,16	{ 2.0 gm. CaCO_3 2.0 gm. MgCO_3 }	69.8	101.3	—	90.7	—	86.8	68.9	97.3
17,18	{ 4.0 gm. CaCO_3 2.0 gm. MgCO_3 }	70.9	104.8	—	92.4	98.7	83.4	67.6	95.9

Soil Portions	Carbonate added	Soil 461		Soil 485		Soil 487	
		Dried blood	Soy bean cake	Dried blood	Soy bean cake	Dried blood	Soy bean cake
1,2	None	94.4	98.3	45.9	79.9	31.	77.0
3,4	1.0 gm. CaCO_3	118.1	93.1	—	—	27.2	83.2
5,6	2.0 gm. CaCO_3	126.2	93.2	46.7	90.0	30.8	87.0
7,8	4.0 gm. CaCO_3	116.6	95.4	—	—	31.3	84.2
9,10	1.0 gm. MgCO_3	119.8	94.5	—	—	42.1	83.6
11,12	2.0 gm. MgCO_3	89.6	94.1	60.7	91.7	50.0	85.7
13,14	4.0 gm. MgCO_3	82.8	89.9	—	—	38.3	80.7
15,16	{ 2.0 gm. CaCO_3 2.0 gm. MgCO_3 }	102.6	91.3	61.6	91.6	46.5	90.9
17,18	{ 4.0 gm. CaCO_3 2.0 gm. MgCO_3 }	99.7	92.4	62.2	97.7	52.4	91.1

In those instances where magnesium carbonates produced stimulation, the further addition of calcium carbonate was without effect on this stimulation. In the one instance where magnesium carbonate proved toxic, the addition of calcium carbonate, seems to have overcome the toxicity. It is doubtful, however, whether this is a true case of antagonism so far as the biological processes are concerned.

The effects produced by magnesium carbonate in these studies with Hawaiian soils, therefore, proved to be quite different from those found in most of the ammonification studies referred to earlier in this paper. The majority of the soils employed in this investigation and especially No. 292, contained an excess of magnesia over lime. Nevertheless, the addition of calcium carbonate produced only slight stimulation, whereas in a number of instances the addition of magnesium carbonate produced considerable stimulation. It seems, therefore, that the lime-magnesia ratio as such has but little or no significance so far as ammonification in these soils is concerned. Moreover, the above results are in harmony with the observations of Lipman et al., in that the effects produced by magnesium carbonate depend in some instances on the nitrogenous material being acted on. It will be noted that magnesium carbonate caused a more marked stimulation in the ammonification of dried blood than of soy bean cake meal.

The California soils used in the experiments already referred to¹⁾ were very sandy in character, and since J. G. Lipman et. al.²⁾ have shown that considerable losses of ammonia may take place from soils containing high percentages of sand, it is possible that magnesium carbonate may have caused greater losses of ammonia in these experiments than calcium carbonate through the formation of ammonium carbonate as suggested by Ashby³⁾. In order to throw some light on this point and also learn more regarding the action of magnesium carbonate, a series of experiments were carried out with a sandy soil which contained large amounts of coral limestone. In these experiments one hundred gram portions of the soil were mixed with the carbonates and two grams of dried blood, brought to optimum moisture by the addition of sterile water, and placed in wide-mouthed bottles, closed with 2 hole rubber stoppers, through which a current of air was slowly drawn by means of a filter pump. The air was first drawn through a solution of sulphuric acid in order to free it from all traces of ammonia, then after passing over the soil in the bottle, it was again drawn through a solution of sulphuric acid. After 7 days incubation, the ammonia was determined both in the soil and in the sulphuric acid. The results are shown in the following table:

Ammonification of Dried blood, Showing total ammonia formed.

Soil 335	Carbonate added	Ammonia N. found in the soil mgs.	Ammonia N. volatilized mgs.	Totals mgs.	Averages mgs.
1	2 gms. CaCO_3	56.7	17.4	74.1	—
2	2 gms. CaCO_3	67.3	10.9	78.2	76.1
3	2 gms. MgCO_3	38.5	17.2	55.7	—
4	2 gms. MgCO_3	40.5	22.4	62.9	59.3

The above data show that 14.1 milligrams of ammonia nitrogen was volatilized under the influence of calcium carbonate and 19 milligrams with magnesium carbonate. On the other hand, 62 milligrams accumulated in the soil where calcium carbonate was added, and only 39.5 milligrams with magnesium carbonate. Combining the ammonia accumulated and that volatilized, we find that 76.1 milligrams of nitrogen was ammonified in the presence of calcium carbonate, and only 59.3 milligrams in the presence of magnesium carbonate. Although this soil is composed largely of coral sand (CaCO_3) the addition of relatively small amounts of magnesium carbonate depressed the yield of ammonia. The conclusion seems justifiable therefore, that magnesium carbonate is toxic to the ammonifying flora of this soil, although there are probably other factors to be considered.

The effects of natural Limestones on ammonification.

Notwithstanding the theoretical interest attached to the effects produced by magnesium carbonate, it is of more practical value to determine the effects produced by the naturally occurring double carbonate of magnesium and calcium (MgCaCO_3), dolomite, which is present in greater or lesser amounts in practically all limestones that are now being applied to soils. Through the kindness of Dr. A. T. Whiting, of the University of Illinois, a few

¹⁾ Loc. cit.

²⁾ N. J. Sta. Rept. 1910. p. 90—93.

³⁾ Loc. cit.

pounds of pulverized limestone (CaCO_3) and a very pure dolomite were obtained, each of which are being applied on a large scale in the Central West.

In order to study the effects produced by these materials, both as regards stimulation and toxicity, three of the soils previously studied were employed, using for comparison the chemically pure carbonates, both singly and combined in amounts corresponding to those in which the carbonates occur in dolomite. The results are shown in the following table:

Ammonification, Showing Effects Produced by Natural Limestones.
(Mgs. Ammonia N. per 100 grams Soil.)

Soil Portions	Carbonate added	Soil 335		Soil 465	Soil 516
		Dried blood	Soy bean cake	Dried blood	Dried blood
1—2	None	50.2	55.7	102.2	92.7
3—4	2 gms. CaCO_3	54.2	53.7	110.6	99.7
5—6	2 gms. MgCO_3	30.2	46.4	114.1	116.1
7—8	{ 1.1 gm. CaCO_3 0.9 gm. MgCO_3 }	29.9	46.9	121.6	109.8
9—10	2 gm. Limestone (CaCO_3)	50.5	56.7	108.9	94.5
11—12	2 gm. Dolomite	49.3	55.4	104.6	92.2

Again calcium carbonate produced only slight stimulation in the ammonification of dried blood, and was without effect on the ammonification of soy bean cake meal. Magnesium carbonate, on the other hand, was toxic to the ammonification of dried blood in soil 335, but stimulating in soils 465 and 516. The effects produced by the two carbonates were similar to those produced by magnesium carbonate alone. On the other hand, it will be seen that both the calcareous and the dolomitic limestones produced effects very similar to those produced by calcium carbonate. Dolomite neither proved toxic in soil 335 nor stimulating in soils 465 and 516. Thus it is shown that the effects produced by dolomite in no way compare with those produced by magnesium carbonate.

It is not intended at this time to go into a general discussion of the principles that probably underlie the above results. It is probable, however, that a number of factors are involved. Among these alkalinity has been suggested. In some preliminary experiments magnesium carbonate, having the composition $3 \text{MgCO}_3 \cdot \text{Mg}(\text{OH})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, was used. It was found that considerable stimulation in the ammonification of dried blood was produced by this material in two heavy clay soils, which stimulation was slightly greater than was produced by corresponding amounts of calcium carbonate, while the effects in a sandy soil were pronouncedly toxic. It was suggested that these effects were, in part at least, referable to the magnesium hydrate contained in this material. With the hope of eliminating magnesium hydrate from consideration a magnesium carbonate, claimed to be free from the hydrate, was used in all the experiments reported in this paper. But this latter material, probably also contained some magnesium hydrate, as a saturated solution of it proved to be of approximately the same alkalinity to methyl orange as a saturated solution of the known to contain hydrate carbonate. It is not certain, however, that the stimulating effects produced by this material as compared with that of calcium carbonate, or the toxicity found in certain instances, were due to the greater alkalinity of the magnesium carbonate.

In the experiments previously reported by the writer on sandy soils from California¹⁾ a magnesium carbonate containing hydrate was used, and marked

¹⁾ Loc. cit.

toxicity both to ammonification and nitrification was produced. It was found for instance that the addition of 1 percent of the magnesium carbonate proved toxic to a considerable degree and that 4 percent produced practically maximum toxicity. Subsequently it was found that the alkalinity of water extracts obtained by leaching portions of one of these soils after ammonification had gone on for seven days, bore no relation to the toxic or stimulating effects produced by magnesium or calcium carbonate respectively. On the other hand, C. B. Lipman¹⁾ has shown from experiments with a similar sandy soil from California that marked stimulation to ammonification was produced by the addition of 4 percent sodium carbonate, a compound generally considered to be strongly alkaline, and that slight stimulation was still produced where as much as 1 percent sodium carbonate was added. It seems probable therefore that the alkalinity of the magnesium carbonate was not responsible for the toxic effects in the California soils.

The difficulties inherent in the determination of actual acidity in soils are very great. Hawaiian soils, as stated above, generally have a high absorptive power for soluble bases, and the adsorptive effects and other physical and chemical phenomena that are produced when a soluble salt is added to a soil must be considered. In view of all these facts it is difficult to determine whether the greater alkalinity of the magnesium carbonate was a factor to be considered in the above experiments. It is true, however, that Hawaiian soils are potentially basic and hence it seems improbable that magnesium carbonate would cause greater stimulation to bacterial action than calcium carbonate on account of its being more actively alkaline²⁾, especially when the latter was added in amounts equal to 2 per cent of the soil. Further discussion of this question is reserved for a subsequent paper on nitrification.

Nachdruck verboten.

Einzellkultur von langsam wachsenden Bakterienarten, speziell der Propionsäurebakterien.

[Mitteilung aus dem hygienischen Institut zu Stockholm.]

Von Gerda Troili-Petersson.

Die Tuschepunktmethode von Burri³⁾, die die Einzellkultur von Bakterien gestattet, hat es ermöglicht, viele Fragen zu bearbeiten, die den älteren Methoden der Bakteriologie unzugänglich waren.

Diese für gewisse Zwecke ausgezeichnete Methode hat jedoch, wenn man langsam wachsende Bakterien reinkultivieren will, gewisse Übelstände. Es ist bei der mikroskopischen Kontrolle der Tuschepunkte unvermeidlich, daß Luftkeime an der Oberfläche des Agars oder der Gelatine haften bleiben und zu Kolonien auswachsen. Dies ist für die schnellwachsenden Bakterien im allgemeinen ohne Belang, aber für die Arten, die sich wesentlich langsamer als die Luftkeime entwickeln, ist das Verhältnis ein anderes. Die Tuschepunkte nebst deren nächsten Umgebung sind zwar durch das Deckglas gegen die Infektion durch hereinfallende Keime geschützt, muß aber die Kultur längere Zeit aufbewahrt werden, so geschieht es oft, daß die Oberflächenkolonien

¹⁾ Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 32. 1912. p. 58—64.

²⁾ In some recent experiments the author has found that the addition of 1 per cent MgO produced no effects on ammonification in a soil in which magnesium carbonate produced notable stimulation.

³⁾ Das Tuscheverfahren. Jena 1909.

sich um den Rand des Deckglases verbreiten oder sogar unter dasselbe hineinwachsen. Bei Verwendung von Gelatineplatten riskiert man außerdem, daß die Gelatine durch Schimmelvegetationen vollständig verflüssigt wird, bevor die Kolonien die für die Überimpfung nötige Größe erreicht haben.

Für das Studium der interessanten Morphologie und Physiologie der Propionsäurebakterien ist die Einzellkultur notwendig. Da aber die Kolonien dieser Bakterien sich sehr langsam entwickeln, war es zu diesem Zwecke erforderlich, die Tuschepunktkulturen in einer Weise anzuordnen, daß die Luftinfektion vollständig ausgeschlossen wurde. Dies wurde durch das Anbringen der Tuschepunktkultur in Böttchers¹⁾ feuchter Kammer oder in einem hohlgeschliffenen Objektträger ermöglicht.

Ich habe mich dabei des folgenden Verfahrens bedient:

Böttchersche Kammern oder hohle Objektträger werden durch Flambieren sterilisiert und in sterile Petrischalen gebracht. Mit Hilfe einer Pasteur-Pipette wird der Hohlraum des Objektträgers, resp. der Glasring der Böttcherschen Kammer mit geschmolzener Laktose-Nährgelatine vollständig bis zum Rande gefüllt. Es ist von großer Wichtigkeit, daß die Oberfläche ganz plan wird und in der Ebene des Glasrandes liegt, so daß ein aufgelegtes Deckglas sich dicht an die Gelatineoberfläche anschließt. Dies wird mit der Böttcherschen Kammer viel leichter erreicht als beim Objektglas; die ersteren sind also unbedingt vorzuziehen.

Die gefüllten Böttcherschen Kammern werden mit Eis abgekühlt. Als sehr zweckmäßig erwies sich folgende Methode: Eine größere Schale wurde mit Eis und Wasser vollständig gefüllt; als Deckel diente eine an der Oberfläche matt geschliffene Glasscheibe, auf welcher die Petrischalen angebracht wurden. Die Tuschepunkte treten nämlich gegen diesen hellen Hintergrund schärfer hervor, wodurch das Anbringen derselben erleichtert wird.

Die Bakterienkultur wird nach Burri mit Tusche verdünnt, und kleine Tuschepunkte werden in gewöhnlicher Weise an die Gelatineoberfläche der Böttcherschen Kammer angebracht. Diese bleibt auf der abgekühlten Glasplatte noch einige Minuten in der geschlossenen Petrischale stehen, worauf ein kaltes, steriles Deckglas aufgelegt wird. Nach Erwärmen der Böttcherschen Kammer auf Zimmertemperatur wird das Deckglas mit heißer Vaseline oder heißem Paraffin festgekittet.

Die Tuschepunkte werden, wie bei der unveränderten Burrimethode mikroskopiert, und die Kultur wird bei geeigneter Temperatur (für die Propionsäurebakterien 20—21°) aufgestellt. Wenn die Kolonien unter wiederholter mikroskopischer Kontrolle genügend entwickelt sind, kühlt man die Gelatine stark ab, entfernt die an den äußeren Glasteilen haftende Vaseline, worauf das Deckglas sich leicht von der Gelatineoberfläche lösen läßt. Die Kolonien bleiben dabei gewöhnlich in der Gelatine stecken; es ist deshalb zu empfehlen, sich die abzuimpfenden Kolonien im voraus vorzumerken, z. B. durch einen feinen Tuschering an der Rückseite des Objektträgers.

Wünscht man die Böttcherschen Kammern für Einzellkultur streng aërober Bakterien zu benutzen, so scheint es mir zweckmäßig, die Tuschepunkte an einer dünnen Gelatineschicht an dem Deckglase anzubringen in Analogie mit Hansens²⁾ Methode der Einzellkultur für Hefe. Ich habe mich davon überzeugt, daß die Tuschepunkte an der nach unten gewendeten Oberfläche der am Deckglase haftenden Gelatine sich sehr gut mit Zeiß DD mikroskopieren lassen.

¹⁾ Klöcker, Die Gärungsorganismen. 2. Aufl. p. 57.

²⁾ Meddel. fr. Carlsberg Laborat. Bd. XL 1883. p. 61.

Für Bakterien, die höhere Temperaturen für ihre Entwicklung erfordern, wird das Verfahren etwas komplizierter. Die Tuschepunkte werden dann nach Burri an der Gelatine angebracht; beim Auflegen des Deckglases werden sie an dem Glase haften und können mit diesem auf Agar übergeführt werden. Die Agaroberfläche darf dabei nicht feucht sein, da sonst die Struktur der Tuschepunkte leicht körnig wird. Wenn man eine Böttchersche Kammer mit Agar füllt, wird aber an der Oberfläche unmittelbar nach dem Erstarren immer etwas Kondenswasser haften. Dieses wird zwar nach einiger Zeit bei Zimmertemperatur verdunsten, durch das Eintrocknen wird jedoch das Volumen des Agars vermindert, und die Oberfläche desselben wird nicht dem Rand des Glasringes der Böttcherschen Kammer erreichen, wodurch die Überführung der Tuschepunkte unmöglich gemacht wird. Diesem Übelstande wird dadurch abgeholfen, daß man die Böttchersche Kammer so stark füllt, daß die Agaroberfläche konvex wird und höher als der Rand des Ringes steht. Nach Erstarren des Agars wendet man mit einer sterilen Lanzette die Agarmasse, die sich leicht von den Wänden des Ringes und vom Objektträger löst, um, so daß die konvexe Seite nach unten und die ganz plane Oberfläche, die vorher dem Objektträger zugewendet war, nach oben kehrt. Die Böttchersche Kammer wird darauf ein paar Tage in der geschlossenen Petrischale aufbewahrt; die Oberfläche ist dann für die Überführung der Tuschepunkte geeignet. Wenn die Oberfläche des Agars über dem Rande des Ringes ein wenig hervorragt, ist der Zwischenraum zwischen Deckglas und Rand mit heißer Vaseline oder Paraffin leicht zu füllen. Beim Festkitten des Deckglases muß beachtet werden, daß sich das Deckglas nicht an die Oberfläche verschiebt, was die Tuschepunkte zerstört.

Das Deckglas muß weiter beim Überführen ungefähr dieselbe Temperatur wie der Agar haben. Wenn man das Deckglas von einer kalten Gelatineoberfläche überführen will, ist es zweckmäßig, dasselbe ein paar Minuten in der Petrischale, worin die Böttchersche Kammer verwahrt wird, mit den Tuschepunkten nach oben liegen zu lassen.

Die Tuschepunkte werden in derselben Weise kontrolliert und die Kolonien übergeimpft, wie bei der unveränderten Burrischen Methode. Es ist natürlich unter allen Verhältnissen zweckmäßig, die Überimpfung der Kolonien in Hansens sterilem Kasten vorzunehmen, wodurch die Gefahr der Luftinfektion auf ein Minimum beschränkt wird.

Durch die beschriebene Modifikation der Tuschepunktmethode Burris ist es mir gelungen, Kulturen von Propionsäurebakterien zu erhalten, die einer Zelle von bekannter Form entstammen, deren Entwicklung ich zu studieren gewünscht habe.

Inhalt.

Original-Abhandlungen.

- Conn, H. Joel**, Bacteria of frozen Soil. III, p. 510.
Kelley, W. P., The Lime-Magnesia Ratio: I. The Effects of Calcium and Magnesium Carbonates on Ammonification, p. 519.
Koegel, Anton, Zur Yoghurtkontrolle, p. 449.

- Lipman, Charles B. and Burgess, Paul S.**, Antagonism between Anions as affecting soil Bacteria, p. 502.
Pantanelli, E., Weitere Untersuchungen über die Mostprotease, p. 480
Troili-Petersson, Gerda, Einzellkultur von langsam wachsenden Bakterienarten, speziell der Propionsäurebakterien, p. 526.

Abgeschlossen am 12. November 1914.

Hofbuchdruckerei Rudolstadt.

**Ein im alkalischen Gelatinemedium Purpurfärbung hervor-
rufender Micrococcus.**

[Aus dem Bakteriologischen Laboratorium des Ministeriums des Innern
zu Tschita.]

Von Dr. I. S. Dudtschenko.

Als ich den Einfluß des Sonnenlichtes auf die Bakterienflora des Eises in quantitativer Beziehung untersuchte¹⁾, isolierte ich einige Reinkulturen von verschiedenen farbigen und farblosen Mikroorganismen. Es befand sich darunter ein *Micrococcus*, der sich durch folgende Besonderheiten auszeichnete:

1. Größe ca. $\frac{1}{4}$ im Durchmesser; Form vollkommen rund;
2. nach allen Merkmalen (Fehlen von Wachstum unter sterilem, neutralem Vaselineöl, vornehmlich oberflächliches Wachstum in Bouillon) handelt es sich um einen streng aëroben Mikroben; er hat augenscheinlich eine schleimige Kapsel. Die Kulturen auf festen Nährmedien sind schleimig, sehr zäh; er wächst gut bei Zimmertemperatur; das Wachstumsoptimum ist vorläufig noch nicht bestimmt;
3. er färbt sich nach Gram;
4. er ist unbeweglich;
5. Gelatine verflüssigt er zu Beginn des Wachstums nicht; in alten Kulturen zeigt sich jedoch partielle Verflüssigung, welche nach und nach zunimmt, aber auf die oberflächlichen Schichten beschränkt bleibt; die Farbe der dicken, undurchsichtigen Gelatinekultur ist grau; Ränder eben;
6. in Bouillon tritt langsame, zarte Trübung ein, welche in den oberflächlichen Schichten beginnt und allmählich in eine diffuse übergeht; auf dem Boden des Reagenzgläschens bildet sich nach und nach ein zäher Niederschlag, der sich beim Schütteln der Bouillon schwer absondert;
7. auf Agar (alkalischem) bildet sich eine dicke, graue, wenig durchsichtige Kultur, die an der Oberfläche wenig glänzend, glatt ist und etwas usurierte Ränder aufweist.
8. Die wesentlichste und konstante Eigentümlichkeit des *Micrococcus* ist seine Eigenschaft, in alkalischer Gelatine Purpurfärbung hervorzurufen. Die Färbung der Gelatine beginnt am 7. bis 10. Wachstumstage und noch später unmittelbar unter der wachsenden Kolonie des *Micrococcus*, wo sie am stärksten ausgeprägt ist, und von wo ab sie in der Richtung nach der Tiefe des Gelatinemediums sukzessive nachläßt, um dann in derselben unmerklich zu verschwinden.

Die beschriebene Purpurfärbung des alkalischen Gelatinemediums wurde bei allen Aussaaten des isolierten *Micrococcus* mit stets gleichbleibender Beständigkeit beobachtet. Sie hat somit den Charakter einer biochemischen

¹⁾ Westnik obschtschestwennoi Hygieny. 1913. H. 7.

Reaktion für den betreffenden *Micrococcus* und muß als dessen bestimmende Charaktereigenschaft anerkannt werden.

Alkalische Bouillon färbt sich beim Wachstum des Mikroben in derselben nicht, während alkalischer (abgeschrägter) Agar in seiner ganzen Dicke eine hellgelbliche Färbung mit zarter, rötlicher Nüance annimmt.

Wenn man eine Kultur des in Rede stehenden *Micrococcus* in Gelatine verpflanzt, welche die Fähigkeit, bei Zimmertemperatur zu erstarren, wegen Überhitzung eingebüßt hat, so tritt selbst nach einmonatigem oder noch längerem Wachstum in diesem Medium auch nicht die geringste Spur irgendeiner Färbung auf; eine Kultur jedoch, welche aus nicht erstarrender Gelatine in erstarrende übertragen worden ist, bewirkt in der letzteren am 7. bis 10. Wachstumstage und oft später die übliche stark ausgeprägte Purpurfärbung. Diese Tatsache weist unter anderem darauf hin, daß irgendeine tiefe Veränderung der chemischen Eigenschaften des Gelatinemediums bei Erwärmung desselben über 110° hinaus eintritt.

Äthylalkohol ändert die Purpurfärbung der Gelatine nicht.

Die weiteren mikrobiologischen Eigentümlichkeiten des isolierten *Micrococcus*, seine eventuelle Pathogenität usw. bilden den Gegenstand meiner weiteren Untersuchungen im Bakteriologischen Laboratorium zu Tschita.

Der isolierte *Micrococcus* kommt in der Natur augenscheinlich nicht häufig vor. Unter den vielen Tausenden von Kolonien, die ich aus Eis isoliert habe, habe ich ihn nur ein einziges Mal angetroffen.

Agar- und Gelatinekulturen des *Micrococcus* habe ich dem Institut für Experimentelle Medizin, und zwar der Abteilung für allgemeine Mikrobiologie, zur Verfügung der Herren Prof. D. K. Sabolotni und W. L. Omelianski gestellt.

Nachdruck verboten.

Über den Einfluß der organischen Säuren auf die Hefe.

[Bakteriologisches Laboratorium des landwirtschaftl. Instituts, Moskau.]

Von Iw. Buromsky.

Bei dem Ausscheiden von reinen Kulturen pathogener Bakterien sind morphologische Änderungen der Kolonien von einer und derselben Bakterienart, Veränderungen in dem Äußeren des Niederschlages der Bakterien in der Nährflüssigkeit und endlich sogar eine Änderung ihrer Gärfähigkeit bemerkt worden. Alle diese Abweichungen von der Norm gaben mir den Anstoß, diese interessanten Erscheinungen zu erforschen und aufzuklären.

Die Veränderlichkeit der höher organisierten Pflanzen ist uns schon bekannt aus den Arbeiten von Darwin, de Vries und Korschinsky. Infolge der Analogie mit den höheren Pflanzen und der Entdeckung der Veränderlichkeit bei den Mikroorganismen tauchte die Frage auf, ob wir es hier nicht mit der Entstehung neuer Arten und Gattungen zu tun haben, und ob es sich dabei nicht um Mutation der Organismen im Sinne von de Vries handelt, mit Vererbung erworbener günstiger Eigenschaften auf die Nachkommenschaft.

Nach der Arbeit von Massini¹⁾ erschien eine ganze Reihe von Untersuchungen in dieser Richtung. Burck, Sauerbeck, R. Müller, Burri und Düggele, Sobernheim und Seligmann, Ehrlich, Baerthlein und andere bewiesen das Bestehen der Mutation im Sinne von de Vries bei den von ihnen untersuchten Bakterien, z. B. beim Typhus, Paratyphus, dem *B. coli*, der Dysenterie und Cholera.

Aber bald nach Veröffentlichung der ersten Arbeiten über die Mutation der Bakterien entstanden Zweifel, ob man auch wirklich die de Vries'sche Mutationstheorie bei den niederen Mikroorganismen anwenden könne.

Reichenbach²⁾, Kruse³⁾ und Pringsheim⁴⁾ sprachen sich gegen die Mutationstheorie bei den Bakterien aus und Burri⁵⁾ und Klein⁶⁾ endlich sprachen sich auf Grund ihrer Untersuchungen gegen die Mutationstheorie bei *B. coli* aus. Bis jetzt sind solche Arbeiten ausschließlich mit Bakterien vorgenommen worden. Darum mußte es von Interesse sein, einen Organismus zu untersuchen, der auf einer höheren Entwicklungsstufe steht, und zu beobachten, wie er sich unter etwas veränderten Lebensbedingungen verhält. Die Wahl fiel auf die Hefe, einen Organismus, der sich sehr rasch vermehrt, was von großem Wert ist, da die Generationen sehr schnell aufeinander folgen.

Die Haupteigenschaft der Hefe ist ihr Vermögen, den Zucker durch die Zymase zur Gärung zu bringen. Zu unserer Aufgabe gehört es also, erstens, eine solche Nährlösung zu finden, auf welcher sich die Hefe entwickeln, aber keine Zymase ausscheiden konnte, und sodann zu bestimmen, 1. in welchem Maß sich der Verlust der Gärkraft forterbt; 2. zugleich Beobachtungen anzustellen über den Einfluß dieser veränderten Nahrungsbedingungen auf die Entwicklung anderer Fermente außer der Zymase.

Das Nährsubstrat.

Bei unseren Versuchen mit Hefe mußten wir sie die ganze Zeit auf einem Substrate halten, welches völlig frei von Zucker und überhaupt von Hydraten war, welche Gärung hervorrufen und die Bildung der Zymase bewirken. Natürlich konnten hier nicht Bierwürze und Traubensaft angewandt werden, weshalb gleich zu Anfang zur Zusammenstellung eines künstlichen Nährsubstrates geschritten werden mußte. Diese Notwendigkeit war durch die verhältnismäßig lange Dauer (ungefähr 2 Jahre) der Versuche und eine Reihe von erneuten Aussaaten gegeben. Die ganze Zeit hindurch mußte das Substrat immer ganz gleich und unveränderlich sein. Nur durch die Beständigkeit der chemischen Mischung der Nährflüssigkeit ermöglichten wir es unseren Mikroorganismen, sich den nicht völlig normalen und natürlichen Lebensbedingungen anzupassen. Aus verschiedenen Gründen benutzten wir Schukow⁷⁾ Mineralsubstrat aus KH_2PO_4 — 0,1% und SO_4Mg — 0,05% und gewöhnlichem Wasserleitungswasser. Als Stickstoffquelle diente 0,5% Asparagin oder 1% Pepton „Witte“ (Kahlbaum). Als Kohlenstoff dienten 1%

¹⁾ Massini, Arch. f. Hyg. Bd. 61. 1907. p. 250.

²⁾ Reichenbach, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Refer. Bd. 42. 1908. Beilage. p. 58.

³⁾ Kruse, Allgem. Mikrobiologie. 1910. Kap. 18.

⁴⁾ Pringsheim, Die Variabilität niederer Organismen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 37. 1913. p. 67.)

⁵⁾ Burri, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 28. 1910. p. 321.

⁶⁾ Klein, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 73. 1913. p. 87.

⁷⁾ Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 2. 1896. p. 601.)

Spiritusarten, Glyzerin und Mannit und organische Säuren, wie Bernsteinsäure, Äpfelsäure, Weinsäure, Zitronensäure und Chinasäure, alle Spiritusarten; nur Chinasäure wurde (0,5%) benutzt.

Die Hefenkulturen wurden bei einer Temperatur von 25—28° C gehalten.

Um den Luftzutritt zu den Flüssigkeiten zu erhöhen, wurden die Substrate alle 1—2 Tage vorsichtig durchgeschüttelt, so daß die Peptonmischung schaumig wurde.

Versuche mit Asparagin.

In diesen Versuchen wurden Bierhefe, Weinhefe und Preßhefe verwandt, und zwar alle Hefenarten in Form von Reinkulturen: Berlin XII, Logos, Froberg, Saaz, Carlsberg I, S. ellipsoid., Johannisberg II, S. pastorian. und Preßhefe. Die Preßhefe war aus gepreßter Hefe von der Fabrik Giwartowsky in Moskau gewonnen worden.

Jedesmal wurde eine Lösung für alle Kolben bereitet; diese enthielten Salze und N-Quellen und im gegebenen Falle Asparagin. Sodann wurde die Lösung in große Kolben gefüllt, zu denen die Säuren nach Gewicht hinzugefügt wurden.

Substrate:		
Asparagin 0,5 g	} +	Chinasäure 0,5%.
KH ₂ PO ₄ 0,1 g		Zitronensäure
MgSO ₄ 0,05 g		Weinsäure
Gewöhnliches Wasser 100 cem		Äpfelsäure
		Bernsteinsäure
		Glyzerin
		Mannit
		} 1%.

Die völlig durchsichtige Flüssigkeit wurde in 500 cem große Erlenmeyer-Kolben in einer Quantität von 100 cem gefüllt. Die mit dem Substrat gefüllten Kolben wurden 3-mal im Koschischen Apparat sterilisiert, und zwar zum erstenmal je 30, zum zweitenmal 20 und zum drittenmal wieder je 20 Minuten mit einem Zwischenraum von 24 Stunden. Durch das Sterilisieren wurde die Lösung in den Kolben, welche Glyzerin und Mannit enthielten, leicht trübe. In die Kolben mit dem Substrat wurde je 1 Platinöse von Reinkulturen der Hefenrassen Saaz, Froberg, Logos und Berlin XII auf Bierwürze gebracht und in den Thermostat bei einer Temperatur von 25° C gestellt, und dort wurden nach 1 Tage alle Kolben vorsichtig durchgeschüttelt. Nach 14 Tagen war in der Hefenentwicklung weder ein Niederschlag noch ein Trübwerden der Lösung beim Kippen der Kolben zu bemerken. Deshalb wurden dieselben Kolben aufs neue mit Kulturen auf Bierwürze infiziert und in den Thermostat gestellt. Nach 1 Monat war ein kleiner Niederschlag zu bemerken, der beim Durchschütteln der Kolben die Lösung mit Kulturen von Logos und Berlin XII trübte. Um sich zu vergewissern, ob die Hefe noch in den Kolben lebte, wo sich weder ein Niederschlag noch eine Trübung gebildet hatte, wurden alle Kulturen aufs neue auf gewöhnlichen Agar-Agar mit Dextrose übertragen. Nach der Quantität der Kolonien auf Agar kann man die der Zellen in den flüssigen Nährstoffen beurteilen.

Kultur I auf Säuren und Spiritusarten (30 Tage) bei 25° C.

Anzahl der Kolonien auf Agar-Agar:

	China- säure	Zitronen- säure	Äpfel- säure	Wein- säure	Bernstein- säure	Mannit	Glyzerin
Saaz. . . .	—	—	—	—	+	+	+
Frohberg. .	—	—	+	—	+	+	++
Logos . . .	++	+	+	—	++	++	++
Berlin XII.	++	—	+	—	++	++	++

Wie aus dieser Tabelle ersichtlich ist, fand auf Weinsäure gar keine Entwicklung statt, auf Zitronensäure kam nur der Logos zur Entwicklung, auf Äpfelsäure alle, außer Saaz, auf Bernsteinsäure ergaben alle Kolonien, auf Chinasäure Logos und Berlin XII, auf Mannit und Glyzerin vermehrten sich alle Hefenarten. Aber beim Übertragen der Hefen auf neue Nährstoffe hörten sie auf, sich zu vermehren und starben in den Säuren ab. Bei der 2. und 3. Kultur vermehrten sich nur Logos und Berlin XII auf China- und Bernsteinsäure. Also konnten sich nur diese 2 Rassen den neuen Nahrungsbedingungen auf Säuren anpassen. Auf Mannit ergab auch die 3. Kultur keine Entwicklung mehr und nur auf Glyzerin erhielten wir dasselbe Resultat.

Unsere Hefenrassen also, außer Logos und Berlin XII auf China- und Bernsteinsäure, entwickelten sich nicht auf Asparagin und auf Säuren. In Anbetracht des Umstandes, daß sich nur 2 Rassen auf Säuren (und auch nicht einmal auf allen) entwickelten, ließ ich das Asparagin weg und ersetzte es in allen folgenden Versuchen durch 1% Pepton „Witte“.

Die Kolben mit den 3. Hefenkulturen wurden in einen dunklen Schrank gestellt und dort aufbewahrt. Nach 18 Monaten wurden alle Hefenarten auf Agar mit Dextrose umgeimpft; alle gaben eine Menge Kolonien.

Versuche mit Pepton.

Pepton 1,0 g	} +	Chinasäure 0,5%,	} 1,0%.
KH_2PO_4 0,1 g		Zitronensäure	
MgSO_4 0,05 g		Weinsäure	
Gewöhnliches Wasser 100 ccm		Äpfelsäure	
		Bernsteinsäure	
		Glyzerin	
		Mannit	

Anfangs wurde immer erst eine Lösung von Salz und Pepton angefertigt; diese Lösung wurde durchgekocht, dann filtriert und in große Kolben gegossen, zu welchen dann die Säuren hinzugefügt wurden. Das fertige Substrat wurde in 300 ccm große Erlenmeyer-Kolben zu nur je 50 ccm gefüllt. Ich nahm geringe Quantitäten, um einen besseren Luftzutritt zu bewirken. Die Kolben wurden dreimal je 30, 20 und 20 Min., nach 24 Stunden sterilisiert, wie auch die mit Asparagin. Während der ersten Hälfte der Versuche wurden die Kolben im Thermostat bei einer Temperatur von 25° C gehalten, bei der zweiten hingegen bei 27°—28° C. Infiziert wurden die Kolben mit Reinkulturen von Bierhefe, Weinhefe und Preßhefe, die frisch auf Agar-Agar gezogen worden waren. Die Hefenkulturen von Säuren wurden der Reihe nach auf frische Substrate verpflanzt. Aus der ersten Kultur, die direkt vom Agar-Agar genommen war, wurde auf die 2. übertragen, die 2. auf die 3. usw. bis zur 28. Kultur. Das Impfen geschah mit einer Platinöse. Die Kulturen blieben im Thermostat bis zur nächsten Überimpfung, sodann wurden sie in einen dunklen Schrank gestellt, wo sie bei Zimmertemperatur blieben. Alle Kulturen wurden mit einem Deckel aus Filtrierpapier bedeckt; letzteres wurde

vorher mit einer 10 proz. Spirituslösung von Salizylsäure angefeuchtet, sodann im Trockenschrank bei 60—70° getrocknet. Unter solchen Vorsichtsmaßnahmen konnten die Kulturen 12 Monate aufbewahrt werden, und erst nach Verlauf 1 Jahres verdunsteten die Flüssigkeiten ganz. Solange die Kulturen noch im Thermostat standen, wurden sie alle 1—2 Tage vorsichtig durchgeschüttelt, wogegen sie im Schrank ganz ruhig standen und nur ab und zu, wenn nachgesehen wurde, ob sich nicht irgendwo Infektionen eingestellt hätten, durchgeschüttelt.

Schon ganz im Anfang war bei der ersten Kultur zu bemerken, daß sich die Hefe auf Pepton unvergleichlich besser entwickelt, als auf Asparagin und im Verlaufe derselben Zeit einen viel größeren Niederschlag ergab.

Anfangs ging die Vermehrung jedoch nicht so rasch von statten; der Niederschlag bildete sich nur sehr allmählich und darum blieben die ersten 6 Kulturen je 1 Monat im Thermostat bei einer Temperatur von 28°. Erst nach der 6. Umimpfung, als sich die Hefe schon scheinbar an die Säureernährung gewöhnt hatte und der Niederschlag rascher zunahm, konnte schon nach 3 Wochen umgeimpft werden, später und ferner in noch kürzerer Zwischenzeit. Angefangen von der 15. Kultur, wurde die Temperatur im Thermostat auf 28—29° erhöht. Bei 28° ging die Vermehrung noch rascher vor sich, so daß schon nach 14 und dann sogar nach 10 Tagen übergeimpft werden konnte, und so fort bis zur 28. Kultur. Hieraus kann man schließen, daß die optimale Temperatur für Hefen bei mineralischer Ernährung auf Säuren und Pepton 28° C beträgt. Wenn die Temperatur bis auf 30° C stieg, so wurde dadurch die Bildung des Niederschlags zurückgehalten. Diese Temperaturerhöhung wirkte ganz besonders auf die Hefe auf Weinsäure ein.

Die verschiedenen Säuren wirken verschieden auf das Äußere des Hefeniederschlags. Die Anzahl der Hefenkolonien verringert sich durch Weinsäure; der Niederschlag sieht dann wie feiner Sand aus. Bei langem Stehen (5 Monate) der Kulturen, bilden sich auf dem Boden kolossale Kolonien von Erbsengröße, die Bildung so großer Kolonien war auf den übrigen Säuren nicht zu beobachten. Ebenso sah der Niederschlag auf Zitronensäure aus. Ganz anders war es mit Bernsteinsäure. In diesem Falle bildet die Hefe große lockere Kolonien, die sich beim Durchschütteln leicht in einzelne Zellen teilen. Auf Äpfelsäure sieht der Niederschlag dem auf Bernsteinsäure ähnlich; auf Chinasäure sehen die Kolonien normal, wie auf Bierwürze, aus.

Schon mit dem bloßen Auge ließ sich nach der Menge des Niederschlags beurteilen, auf welchen Säuren die Vermehrung der Zellen rascher, auf welchen langsamer fortschreitet. Den größten Niederschlag erhält man auf Bernsteinsäure, den geringsten auf Weinsäure. Auf Äpfelsäure war der Niederschlag mittelgroß, auf Zitronensäure und der Chinasäure aber noch geringer.

Der Einfluß der verschiedenen Säuren auf die Hefe wurde nicht nach dem Gewicht des gebildeten Niederschlags beurteilt, sondern nach der Anzahl der Zellen in einem und demselben Volumen der Kulturflüssigkeit, welche sich unter gleichen Temperatur- und Zeitbedingungen befanden. Das Gewicht des Niederschlags kann man nicht leicht nach der Anzahl der Zellen bestimmen, infolge des mikroskopischen Bildes der Hefenzellen auf verschiedenen Säuren. Auf Bernsteinsäure sind die Zellen am größten und am besten ernährt; sie haben feine Membranen; auf Weinsäure hingegen sind die

Zellen klein und die Wände dick; auf den übrigen Säuren zeigt die Hefe bald ein ähnliches Bild wie auf der Bernsteinsäure oder Weinsäure.

Zum Zählen der Zellen bediente ich mich der Z e i ß schen Zählkammer. Am schwersten waren die Kulturen von Preßhefe zu zählen, da diese Art von Hefe auf Säuren sehr große und ungemein kompakte Kolonien bildet, so daß ich sogar das Deckglas leicht andrücken mußte, um die Kolonie zu zerteilen und die Zellen einzeln sichtbar zu machen. Die übrigen Hefenarten waren leicht zu zählen, da sich die Kolonien schon beim Durchschütteln teilten und gleichmäßig im Gesichtskreise des Mikroskops verteilten.

Das Zählen der Hefenzellen auf verschiedenen Säuren gibt ein vollkommen klares Bild von der Vermehrung auf verschiedenen Säuren. Die größte Anzahl von Zellen für alle Arten und Rassen von Hefen zeigte die Bernsteinsäure, weniger die Äpfelsäure und die geringste die Weinsäure. Ganz anders verhielt sich die Hefe zur China- und Zitronensäure. Einige Hefenarten entwickeln sich besser auf Chinasäure, andere hingegen auf Zitronensäure; für einige ist der Unterschied zwischen Zitronen- und Weinsäure kolossal, für andere kommt er aber fast gar nicht in Betracht, so daß es unmöglich ist, eine allgemeine Regel für alle Hefenarten auf China- und Zitronensäure zu ziehen. Um uns ein besseres Bild des Verhaltens der verschiedenen Hefenarten gegenüber verschiedenen Säuren zu machen, geben wir eine Tabelle mit Angabe der Anzahl der Zellen in den Kulturen.

Allgemeine Tabelle der Zellenanzahl von sieben berechneten Hefenkulturen.

	China- säure	Zitronen- säure	Äpfel- säure	Wein- säure	Bernstein- säure ¹⁾
Berlin XII	2,270	1,964	2,864	1,515	1,688
Logos	8,950	7,220	12,670	4,644	14,300
Frohberg	5,028	3,609	6,650	2,559	10,170
Saaz ²⁾	3,138	1,412	15,020	55	28,460
Carlsberg	6,582	3,905	5,155	3,051	11,220
Preßhefe	2,952	2,160	3,720	1,507	1,645
S. ellipsoid.	9,132	21,390	24,220	3,882	24,970
Johannisberg II	8,031	5,694	17,580	5,106	20,770
S. pastorian. ²⁾	4,886	10,340	10,550	120	26,660

Aus dieser Tabelle ist das Verhalten der Hefe zu verschiedenen Säuren deutlich zu ersehen. Die größte Anzahl von Zellen, also auch die beste Entwicklung, ist auf Bernsteinsäure zu beobachten, sodann folgt Äpfelsäure, Chinasäure, Zitronensäure und endlich Weinsäure mit der schwächsten Entwicklung.

Nur *S. ellipsoideus* und *S. pastorianus* entwickelten sich besser auf Zitronensäure als auf Chinasäure. Die Weinsäure wirkt sehr ungünstig auf die Vermehrung aller Hefenarten; Saaz und *S. pastorianus* war schon bei der zweiten Aussaat völlig entartet.

Die Bierhefen Berlin XII, Frohberg und auch Preßhefe entwickeln sich überhaupt schwächer als die übrigen Hefenarten. Besser entwickeln sich

¹⁾ Auf Bernsteinsäure sind die Hefenzellen nur von vier Kulturen gezählt.

²⁾ Die Hefenarten Saaz und *S. pastorianus* sind nur bei drei Kulturen auf allen Säuren zusammengezählt.

Carlsberg I, und Saaz, Logos nähert sich seiner Entwicklungsenergie nach auf Säuren ungefähr der Gruppe der Weinhefen.

Die stärkste Entwicklung zeigte *S. ellipsoideus* auf allen Säuren, außer Weinsäure, welche seine Entwicklung sehr schwächte, wogegen die Hefe Johannisberg II überhaupt eine schwächere Entwicklung zeigte. In diesem Falle war im Gegensatz zu *S. ellipsoideus* die Anzahl der Zellen größer auf Chinasäure als auf Zitronensäure und dann glich sich fast der Unterschied zwischen Weinsäure und Zitronensäure aus; denn auf beiden Säuren war fast dieselbe Anzahl von Zellen. *S. pastorianus* nähert sich dem *S. ellipsoideus*.

Versuche mit Glycerin und Mannit.

Die erste Hefenkultur mit 1 Proz. Glycerin und Mannit wurde von einer Kultur auf Agar geimpft, die sich gut im Thermostat entwickelte. Verpflanzt auf Agar mit Dextrose, ergab sie günstige Resultate, d. h. alle Hefe bildete Kolonien auf Agar. Danach wurde die erste Kultur, wie auch von beiden Säuren mit einer Platinöse auf frische Substrate übertragen.

Nach einiger Zeit erwies es sich, daß sich *S. ellipsoideus* und Johannisberg II auf Glycerin und Logos und Preßhefe auf Mannit nicht entwickeln; sie bildeten weder einen Niederschlag, noch eine Trübung. Die Kolben mit diesen Hefenarten wurden daher aufs Neue mit der ersten Kultur geimpft, ergaben aber wieder aus irgendwelchen Gründen gar keine Entwicklung.

Beim Überimpfen der zweiten Kultur auf ein neues Substrat stellte *Saccharomyces ellipsoideus* auf Mannit seine Entwicklung ein, so daß also von den Weinhefen nur Johannisberg II auf Mannit übrig blieb. Alle Bierhefen — Berlin XII, Logos, Froberg, Carlsberg I — entwickelten sich unvergleichlich besser auf Glycerin als auf Mannit. Die geringste Anzahl von Zellen ergab die Rasse Berlin XII auf beiden Spiritusarten

	2. Kultur	3. Kultur
Berlin XII	{ 650 245	310 Glycerin 250 Mannit,

und die größte Carlsberg I.

	2. Kultur	3. Kultur
Carlsberg I	{ 7960 1080	14 400 Glycerin 560 Mannit.

Bei der 5. Kultur waren Berlin XII und Logos auf Glycerin und Mannit vollkommen entartet, so daß also nur Carlsberg I und Froberg übrig blieben.

	5. Kultur.	
	Carlsberg I	Froberg
Glycerin	11 400	4080
Mannit	386	140

Die Weinhefe *S. ellipsoideus* entartete ganz auf Glycerin und Mannit, Johannisberg II erhielt sich nur auf Mannit. Bemerkenswert ist es, daß Johannisberg II auf Mannit eine kolossale Entwicklung aufweist. Die Anzahl der Zellen in 0,1 mm der 2. Kultur betrug 3200, in der 3. 30 000, (30-tägige Kultur), in der 5. 18 000 (3½ Monate).

Während alle Hefenarten sich auf den Säuren während der ganzen Zeit entwickelten, entarteten auf Mannit und Glycerin von 7 die meisten und nur Carlsberg I, Froberg und Johannisberg II vermehrten sich auf Mannit weiter.

Der Grund dieser Erscheinung ist unbekannt. Es ist nicht unwahrscheinlich, daß sich schädliche Umwandlungsprodukte bilden. Jedenfalls sind weder Mannit noch Glycerin gute Kohlenstoffquellen auf Mineralpeptonsubstrat, wenigstens bei lange andauerndem Kultivieren der Hefe auf demselben. Vielleicht spielte hier auch die Reaktion des Nährstoffes eine Rolle, der bei den ersten Versuchen leicht alkalisch war. Wenn das Pepton alkalisch war, wurde zu 1 Liter Substrat je 1 ccm Phosphorsäure hinzugefügt.

Betreffs der Asparaginkulturen habe ich schon bemerkt, daß diejenigen Kulturen, die nach der 3. Aussaat noch nicht entartet waren, 18 Monate lebensfähig blieben (auf Chinasäure, Berlin XII und Logos, auf Bernsteinsäure, Berlin XII und Logos, auf Glycerin, Logos und Froberg). Bei den Versuchen mit Pepton blieben alle Hefenarten auf sämtlichen Säuren ohne Ausnahme so lange lebensfähig, bis die Flüssigkeit in den Kolben vollkommen verdunstet war. Die 50 ccm Flüssigkeit, mit welcher die Kolben angefüllt waren, reichten ungefähr für 1 Jahr aus, nach dessen Verlauf der Boden von einer trockenen Haut bedeckt war.

Die anfangs strohgelbe Farbe des Filtrats wurde bei der Entwicklung der Hefe rotbraun; je weiter die Entwicklung vorschritt, desto dunkler wurde das Filtrat. Ein Unterschied zwischen der Färbung der Substrate mit verschiedenen Säuren und verschiedenen Hefenarten war nicht zu bemerken. Im Asparaginsubstrat hingegen fand in keinem Falle eine Veränderung der Färbung statt, solange man die Kultur auch stehen ließ.

Bei Kossowicz¹⁾ zeigen die verschiedenen Hefenarten auf rein mineralischen Substraten ohne Pepton und Asparagin, aber mit einem Zusatz von Zucker (5 Proz. Rohrzucker) verschiedene Färbungen der Flüssigkeit. Zusatz von Weinsäure oder Asparagin zu diesem Substrat beeinträchtigte die Färbung. Unsere Versuche auf Asparagin stimmen also mit denen von Kossowicz überein. Aber auf Pepton und Weinsäure beeinträchtigt es die Färbung des Substrats nicht.

Bei Aufbewahrung der Kulturen wurde besondere Aufmerksamkeit der Bildung des Heferinges an den Wänden des Gefäßes geschenkt.

Bei Hansen bildete sich der Ring in Bierwürze bei 20—22° C nach 4—17 Tagen, bei 26—28° C etwas früher.

Bei Kossowicz wurde die Bildung des Ringes auf Mineralsubstrat mit $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ und Zucker zurückgehalten und war bei einer Temperatur von 22—25° C erst nach Verlauf von 12—36 Tagen zu beobachten. In unseren Versuchen bildete sich der Ring noch später als bei Kossowicz, und zwar erst nach 3—4 Monaten. Einen Monat lang standen die Kulturen bei einer Temperatur von 25—28° C, sodann bei Zimmertemperatur von 20° C.

Die Hefenkulturen wurden nach dauernder Entwicklung auf dem Substrat mit Säuren auf ihr Vermögen Sporen zu bilden, geprüft. Die 23. Hefenkultur wurde auf Agar-Agar von Gorodkova²⁾ übertragen (100 ccm gewöhnliches Wasser, 1 Proz. Agar, 1 Proz. Pepton, 1 Proz. Fleischextrakt, $\frac{1}{2}$ Proz. NaCl und $\frac{1}{4}$ Proz. Glukose). Auf solchem Agar, sagt Gorodkova, erscheinen nach 3—4 Tagen bei 28° C Sporen, deren Anzahl sich bei Entwicklung der Hefe vermehrt. Nach dem Überimpfen ergaben unsere Hefenkulturen Sporen, aber erst nach 2—3 Wochen und auch nicht einmal alle.

¹⁾ Zeitschr. f. d. landw. Versuchsw. Österreichs. Bd. 6. 1903. p. 27.

²⁾ Gorodkova, Bulletin du jardin impérial botanique de St. Pétersbourg. T. 8. 1908. p. 165.

Gar keine Sporen gaben:

Carlsberg I: von Weinsäure,
Logos: von Bernsteinsäure,
Berlin XII und Froberg: von allen Säuren,
Preßhefe: von China-, Zitronen-, Äpfel- und Weinsäure,
S. ellipsoideus: von China- und Weinsäure.

Diejenigen Hefenarten, welche auf dem Agar von G o r o d k o w a keine Sporen bildeten, wurden aus der 27. Kultur auf Malzwürze mit Zusatz von 5% Rohrzucker übertragen. Da nach Verlauf von 24 Stunden absolut keine Gärungszeichen zu bemerken waren, wurden die Kolben mit der Hefe noch auf 36 Stunden in den Thermostat gestellt und sodann ein Teil des Niederschlages auf Gipsplatten übertragen. Die Gefäße mit den Platten wurden bei 26° C aufbewahrt. Die Untersuchung der Sporen wurde anfangs nach 24 Stunden vorgenommen, dann alle 2—3 Tage, und zwar im Verlaufe von 20 Tagen. Nach 4 Tagen waren Sporen bei Logos von der Bernsteinsäure in sehr geringer Anzahl zu beobachten und noch weniger bei S. ellipsoideus von Chinasäure. Die übrigen Hefenarten zeigten im Verlauf von 20 Tagen bei 26° gar keine Sporen.

Der Versuch mit den Gipsplatten wurde aufs Neue mit derselben Hefe aus der 27. Kultur wiederholt und ergab dasselbe Resultat. In 14 Tagen waren bei 28° C. nur einzelne Zellen mit Sporen bei Logos von Bernsteinsäure und bei S. ellipsoideus von Chinasäure zu sehen.

Sowie die asporogenen Rassen von H a n s e n ihr Vermögen, eine Haut auf dem Substrat zu bilden, verlieren, so wurde auch bei unseren Hefenarten auf Säuren durch die Schwächung der Sporenbildung (überall, wo Sporen waren, waren sie nur in sehr geringen Mengen zu beobachten) die Bildung des Ringes stark zurückgehalten.

Vieler Versuche ungeachtet, entwickelte sich S. P o m b e gar nicht auf Mineralsubstrat mit Pepton und Säuren. B e i j e r i n c k ¹⁾ beobachtete das gleiche bei S c h i z o s a c c h a r o m y c e s o c t o s p o r u s .

Auf Asparagin war unter den besten Bedingungen ein kaum bemerkbares Wachstum zu beobachten, desgleichen auf „Pepton siccum“. Nur die natürlichen Stickstoffverbindungen, die sich im Malz und in den Rosinen finden, können als Stickstoffquellen dienen. Das Impfen des Substrates mit Säure geschah mit den Kulturen auf Bierwürze und auf Agar mit Dextrose.

G ä r u n g s v e r s u c h e m i t H e f e n i n S a c c h a r o m e t e r n .

Als es sich herausstellte, daß sich Hefe recht gut auf Mineralsubstraten mit Pepton und Säuren anstatt der Kohlenstoffquellen entwickeln kann, wurde ein vorläufiger Versuch angestellt, um zu ergründen, wie sich Hefe nach der Ernährung auf Säuren zu den Substraten mit Zucker verhält. Zu diesem Zwecke wurde Bierwürze mit einem Zusatz von 10 Proz. Rohrzucker gebraucht. Um die Schnelligkeit des Ausscheidens von CO₂ und dessen Quantität zu beobachten, wurde dieser Versuch mit E i n h o r n s c h e n Saccharometern mit einem Volumen von 10 ccm bis an den unteren Strich an der Biegung des Rohres unternommen.

Es wurde eine bestimmte Quantität Substrat mit Hefe genommen, zu welcher bis zu 10 ccm sterile Bierwürze hinzugefügt wurde, um in der Mischung immer ein und dieselbe Menge von Zellen in 0,1 ccm zu erhalten.

¹⁾ Centralbl. f. Bakt. Bd. 16. 1894. p. 49.

Die dritte Hefenkultur wurde gezählt und dann wurde mit sterilisierten, graduerten, kleinen Pipetten davon soviel Flüssigkeit genommen, um in 10 ccm Mischung mit Würze eine Anzahl von 150 in 0,1 ccm Zellen zu erhalten. In Anbetracht der Zellenanzahl in den Tiefenkulturen wurden 0,25 ccm bis 2,0 ccm genommen. Von oben wurden die Saccharometer mit Watte verstopft und in den Thermostat bei einer Temperatur von 25—27° C gebracht.

Nach 24 Stunden wurde der Versuch abgeschlossen. In einigen Saccharometern wurde starke Gärung, in anderen schwache und in den dritten gar keine Gärung beobachtet; es war keine Spur von aufsteigenden Bläschen zu sehen und die Flüssigkeit in den Saccharometern stieg bis oben.

Um die Gärkraft zu vergleichen, wurden Versuche mit Hefenarten angestellt, die nur auf Bierwürze kultiviert waren. Nach Ablauf des Gärungsprozesses, nach 5 Tagen wurde in der Würze mit Hefen die Anzahl der Zellen bestimmt, und dann wurde aus derselben eine Anzahl von Kubikzentimetern entnommen in der Weise, daß auf 0,1 ccm 150 Zellen kamen (0,2—0,45 ccm). Der Rest wurde bis auf 10 ccm mit Bierwürze mit 10 Proz. Zucker nachgefüllt. Die Saccharometer wurden bei 26—27° C in den Thermostat gebracht.

Nach 15 Stunden hatten einige Hefenarten die ganze Würze in Gärung gebracht — das ganze Röhrchen war mit CO₂ angefüllt, die anderen aber nur zur Hälfte. Nach 24 Stunden waren die Röhrchen der Saccharometer ganz mit CO₂ gefüllt. Ein anderer Versuch, und zwar der letzte, ergab eine noch größere Gärkraft. 1 ccm enthielt je 200 Zellen, und nach 20 Stunden war die ganze Würze vergoren. Es besitzt also unsere Hefe wie die Bierhefe und auch die Weinhefe eine sehr große Gärkraft.

Beim Vergleiche der Gärkraft der Hefe von Bierwürze mit derjenigen der Hefe von Säuresubstraten ergibt sich aber ein großer Unterschied. Die Gärkraft der Hefenarten auf Säuren ist in bedeutendem Grade geschwächt und einige von ihnen, wie z. B. Carlsberg I und Johannisberg II kamen gar nicht zur Gärung, trotz günstigster Bedingungen. Der Niederschlag der Hefe in den Röhrchen der Saccharometer nahm in 24 Stunden merklich ab. Es ging also eine Vermehrung der Zellen vor sich, CO₂ aber wurde nicht ausgeschieden, da keine Zymase in den Zellen war.

Versuch 2.

Aus dem vorhergehenden Versuch ersieht man, daß die Gärkraft der Hefe in einigen Fällen sogar sehr stark geschwächt wird, die Vermehrung der Zellen aber ihren Lauf geht; jedenfalls nahm der Niederschlag der Hefe in den Saccharometern sogar für das bloße Auge sichtbar zu. Um diese Vermehrung der Zellen festzustellen, wurde ein neuer Versuch mit derselben 3. Kultur gemacht. Von den Hefenarten wählte ich Carlsberg I, *S. ellipsoideus*, Johannisberg II und Preßhefe.

In diesem Falle wurde der Versuch etwas anders angestellt, da im Verlaufe der Gärungsperiode die Zellen gezählt werden mußten, um Gewißheit zu erlangen, ob sie sich wirklich vermehren. Zu 20 ccm steriler Bierwürze mit 10 Proz. Zucker wurden soviel Kubikzentimeter Flüssigkeit mit Hefe aus der 3. Kultur hinzugefügt, daß ungefähr überall eine gleiche Anzahl von Zellen vorhanden war. Die Mischung wurde gründlich durchgeschüttelt und wie in den vorhergehenden Versuchen in Saccharometer gefüllt. Der Rest der Mischung, ungefähr 12 ccm, wurde in Probierröhrchen vom Durchmesser der Saccharometer gefüllt, mit Watte verkorkt und alles bei 26—28° C in den Thermostat gebracht.

Aus diesen Probierröhren wurden mit sterilen Pipetten Proben zu je 1,5 ccm genommen nach gründlichem Mischen und Durchblasen mit denselben Pipetten, deren obere Enden mit Watte angefüllt waren. Diese Proben wurden in kleine, schmale Probierröhren gefüllt, sodann einer jeden 2 Tropfen Formalin hinzugefügt, durchgeschüttelt und dann zum Zählen aufbewahrt (zwischen Doppelfenstern). Vor dem Zählen wurden die Proben gründlich gemischt und mit einer Pipette durchgeblasen.

In allen Proben wurde immer Formalin hinzugefügt, um die Hefe zu töten und somit überall auf einmal ihre Vermehrung zu hemmen.

In den Saccharometern wurde die ganze Zeit nur die Gärung, das Ausscheiden von CO_2 , der Beginn und Verlauf desselben beobachtet, in den einzelnen Probierröhren der Würze aber der Beginn des Ausscheidens von CO_2 und die Zellenvermehrung. Infolge des Durchschüttelns der Flüssigkeit in den Probierröhren vor der Entnahme der Proben, konnte die Luft außerordentlich gut hinzutreten. Bis zum Schlusse der Versuche wurde die Würze in den Röhrchen gut durchgelüftet, was in den Saccharometern nicht der Fall war. Dank dieser Aëration waren in den Probierröhren zum Ende des Versuches mehr Zellen vorhanden, die Hefe vermehrte sich rascher als in den Saccharometern.

Der Anfang des Gärprozesses in den Probierröhren fiel mit demjenigen in den Saccharometern prompt zusammen, was insofern wichtig ist, daß sie es ermöglicht in beiden Fällen eine Parallele zwischen der Lebensfähigkeit zu ziehen, was von besonderer Bedeutung zu Anfang des Versuches noch vor Beginn des Gärprozesses ist.

Wie man aus der Tabelle des 2. Versuches ersieht, beginnt der Gärprozeß in den Saccharometern bei den verschiedenen Hefenarten in den meisten Fällen 24 Stunden nach Beginn des Versuches. Eine Ausnahme macht nur die Preßhefe die von China- und Zitronensäure genommen, nach 16 Stunden zu gären begann. (Die Hefe von Bierwürze brachte in 15—24 Stunden die ganze Würze zur Gärung.)

Zu gleicher Zeit zeigt die Tabelle der Zellenvermehrung der Hefe, daß dieselbe gleich nach Übertragung derselben in die Würze begonnen hat. Nach 15—20 Stunden nahm die Anzahl der Zellen um das Mehrfache zu. Sodann scheint im Verlaufe der nächsten 4 Stunden eine Änderung in der Lebenstätigkeit der Zellen vor sich zu gehen; die Vermehrung nimmt beträchtlich zu und zu gleicher Zeit erscheinen in den Probierröhrchen und Saccharometern kaum bemerkbare CO_2 -Bläschen, welche nur sehr allmählich aufsteigen. Also zeigt dieser Versuch sehr deutlich, daß sich die Hefe wirklich vermehrt, wenn auch keine Spur von Gärung vorhanden ist; d. h. Hefen, welche auf einem Substrate leben, welches keine gärfähigen Stoffe enthält, hören auf, das entsprechende Enzym, die Zymase auszusecheiden. Wenn sie aber wieder in ein gärfähiges Medium versetzt wurden, so lebten sie sofort in der früheren Weise weiter und erst nach vielen Generationen gewannen sie auf Zuckerlösungen wieder ihr Vermögen, das nötige Ferment auszusecheiden zurück. Die Gärung begann, der neue Zufluß von Energie regte die Lebensfähigkeit der Zellen an, die sich nun stark vermehrten.

Versuch 3.

Hefe der 3. Kultur wurde auf dem gleichen Substrate mit derselben Proportion Säure, nur mit einem minimalen Zusatz von Zucker, und zwar $\frac{1}{4}$ Proz. Rohrzucker, versetzt. Da jedes Saccharometer je 10 ccm Flüssigkeit

enthält, so muß es auch $0,25 : 10 = 0,025$ g Zucker enthalten. Wenn der ganze Zucker durch die Hefe in Gärung übergehen würde, so müßten $0,028 : 2 = 0,012$ g oder ungefähr 6 ccm CO_2 ausgeschieden werden. Da wir es mit einer sauren Lösung (1 Proz. Säure) zu tun haben, so läßt sich die geringste Quantität von CO_2 , welche sich infolge der Gärung entwickelt hat, ausscheiden und nachweisen.

Dieser Versuch wurde ganz wie der zweite gemacht.

Die Saccharometer und Probierröhrchen wurden in den Thermostat bei $26-28^\circ \text{C}$ gestellt.

Aus der Tabelle des 3. Versuches ersehen wir, daß die Hefenarten Carlsberg I, *S. ellipsoideus*, Johannisberg II und Preßhefe auf allen Säuren eine Vermehrung der Zellenanzahl ergeben haben, dagegen nicht auf allen gegoren haben.

Auf Chinasäure fing die Gärung am frühesten an, und zwar bei allen Hefenarten nach 24 Stunden; nur Carlsberg I fing erst nach 39 Stunden zu gären an. Auf Zitronensäure tat das nur Carlsberg I nach 39 Stunden; die übrigen wiesen bis zum Ende des Versuches (im Verlaufe von 111 Stunden) nicht die geringste Spur von CO_2 auf. Auf Äpfelsäure zeigten sich die ersten Spuren der Gärung nach 39 Stunden bei Carlsberg I und nach 24 Stunden bei *S. ellipsoideus*. Auf Weinsäure fing Johannisberg II nach 39 Stunden zu gären an. Die übrigen zeigten gar keine Gärung.

Nach 63 Stunden erreichte CO_2 sein Maximum, wonach sich seine Quantität bis zum Schlusse (111 Stunden) des Versuches nicht vergrößerte. Aber nach Abschluß des Gärprozesses verschwand auch die Energie der Zellenvermehrung, deren Anzahl sich nur noch sehr unbedeutend vergrößerte.

Diejenigen Hefenarten, welche den Zucker bis zum Schlusse der Versuche nicht in Gärung brachten, fahren fort, sich zu vermehren, und die Zahl der Zellen vermehrte sich allmählich bis zu Ende.

Versuch 5.

In diesem Versuch diente die 10. Kultur der Hefenrassen Berlin XII, Logos und Froberg auf Säuren.

Diese Methode war dieselbe wie in den vorhergehenden Versuchen. In 19 ccm Substrat mit Säuren und 0,5 Proz Rohrzucker wurde je zu 1 ccm (16-tägige) Hefenkultur hinzugefügt.

Wie aus der Tabelle zu ersehen ist, begann die Gärung 44 Stunden nach Beginn des Versuches in den Saccharometern bei Berlin XII und nach 68 Stunden bei Froberg; bei Logos auf China- und Äpfelsäure nach 44 Stunden, und auf Zitronen- und Weinsäure nach 68 Stunden. Es verhalten sich also diese neuen Bierhefenrassen wie die früheren ebenso anfangs in der Zuckerlösung wie im sauren Substrat, d. h. sie gären nicht, aber vermehren sich doch, wie aus der Anzahl der Zellen in den Probierröhrchen hervorgeht. Wenn die Zellen eine gewisse Anzahl von Generationen auf Zuckerlösung erlebt haben, gewinnen sie die Fähigkeit, das Gärferment, die Zymase, auszuschcheiden, zurück, und die Gärung beginnt. Nach Abschluß des Versuches wies die geringste Zellenzahl Berlin XII auf, eine größere Froberg und die größte Logos. Hier treffen wir dieselbe Steigerung bezüglich der Säuren, wie bei den Kulturen nur auf Säuren ohne Zuckerzusatz, d. h. der Zucker hat den Einfluß der Säuren auf die Hefe nicht geändert.

Versuche 6 und 7.

Um den Einfluß der Säuren auf die Hefenarten ihre Vermehrung und Gärkraft zu bestimmen, wurden diese 2 Versuche und die nächsten 2 parallel angestellt. Dazu wurden die Hefenarten Carlsberg I, *S. ellipsoideus*, Johannisberg II und Preßhefe aus der 10. Kultur auf Säuren verwendet. Zum 7. Versuche wurde das gewöhnliche Substrat mit Säuren und 0,5 Proz. Rohrzucker benutzt, beim 6. Versuche aber dasselbe Mineralsubstrat mit Pepton und 0,5 Proz. Rohrzucker, aber ohne Säuren. Da das Peptonsubstrat eine schwache alkalische Reaktion zeigte, wurde Phosphorsäure bis zu einer leicht sauren Reaktion hinzugefügt. Die Versuchsanstellung war dieselbe wie bei 3 und 4. Auf 19 ccm Zuckersubstrat mit und ohne Säuren wurde je zu 1 ccm Hefe aus der der 10. Kultur hinzugefügt. Wie man aus der Tabelle des 6. Versuches ersieht, haben auf den säurefreien Substraten alle Hefenarten, auch diejenigen, die von Säuren kamen, gegoren. Nur *S. ellipsoideus* von Zitronen- und Äpfelsäure und Johannisberg von Äpfelsäure zeigten die ersten Gäranzeichen nach 22 Stunden, die übrigen später.

Die Hefe Carlsberg I ergab von allen Säuren eine geringere Zellenanzahl auf dem säurefreien Substrat, als Preßhefe (auf den Säuren); *S. ellipsoideus* ergab die größte Zellenanzahl in 1 cmm. In den Substraten mit Säuren fand in 9 Saccharometern in den ersten 48 Stunden gar keine Gärung statt, in den 7 übrigen ließ sich Gärung erst zu Ende des Versuchs feststellen.

In dem 7. Versuche wurde die Gärung auf den Säuren stark zurückgehalten; auf Weinsäure zeigte sie sich gar nicht, auf Zitronensäure nur bei *S. ellipsoideus*, auf Chinasäure gärten alle Hefenarten, und zwar am energischsten *S. ellipsoideus* fing auf Zitronensäure erst dann zu gären an, als die Zellenanzahl 1220 in 0,1 cmm erreicht hatte; auf den säurefreien Substraten fing die Hefe von derselben Säure schon bei 510 Zellen zu gären an. *S. ellipsoideus* gärte, als seine Zellenzahl auf Äpfelsäure 1790 und auf säurefreiem Substrate 870 betrug. Die Zellenzahl der Hefenarten auf Säuren mit Zucker war immer geringer im Vergleich mit den entsprechenden Saccharometern, die keine Säure enthielten.

Ganz besonders deutlich ist der hemmende Einfluß der Weinsäure auf die Vermehrung der Hefe zu ersehen; der Zusatz von 0,5 Proz. Zucker hat das Verhalten der Hefe zu den Säuren nicht geändert.

Die geringste Zellenanzahl ergab die Preßhefe, eine größere Carlsberg I, eine noch größere Johannisberg II und endlich die größte *S. ellipsoideus*; die Reihenfolge der Rassen ist demnach dieselbe geblieben wie auf den beiden Säuren ohne Zucker.

Versuch 8 und 9.

Diese Versuche bilden die Fortsetzung der beiden vorhergehenden; dazu wurden Bierhefen Berlin XII, Logos und Froberg aus der 11. Kultur auf Säuren verwendet. Die Substrate waren dieselben wie in den vorigen Versuchen mit 0,5 Proz. Rohrzucker, die einen mit, die anderen ohne Säure. In 19 ccm Substrat wurde 1 ccm der Hefenkultur hinzugefügt.

Bei dem 8. Versuche gärten alle Hefenrassen. Nach 24 Stunden zeigten sich die ersten Zeichen von Gärung bei Berlin XII von Weinsäure und bei Logos von Zitronen- und Äpfelsäure, die Hefenarten von den übrigen Säuren fingen erst zu Ende des 2. Tages zu gären an. Auf den säurefreien Substraten ergab Logos die größte Zellenanzahl, die nächste Stelle nimmt Berlin XII und die letzte Froberg ein (auf Säuren treten Berlin XII und Froberg,

die empfindlicher gegen Säure sind, an ihre Stellen). In dem 9. Versuche auf Substraten mit Säuren fand eine große Hemmung im Gärprozeß statt, wie in den beiden vorhergehenden Versuchen; die Gärung trat erst nach Verlauf von 2 und sogar 3 Tagen ein. In 4 Saccharometern hatte bis zum Schlusse der Versuche, also nach Verlauf von 96 Stunden, die Gärung noch gar nicht begonnen.

Die Hefenrasse Berlin XII gäerte nur auf Chinasäure, wo die Zellenvermehrung gut fortschritt. Auf den übrigen Säuren, wo die Vermehrung geschwächt war, gab es keine Gärung. Diejenige Zelle, welche sich entwöhnt hat, zu gären, muß eine gewisse Anzahl von Generationen auf Zucker erleben, um diese Fähigkeit wiederzuerlangen. Hier sehen wir auch, daß auf denjenigen Säuren, wo der Wechsel der Generation rascher vor sich geht, auch eher die Gärung sich einstellt. Die Hefenrasse Berlin XII verträgt überhaupt die organischen Säuren schlecht, worauf wir schon bei der Vermehrung der Bier- und Weinhefen auf verschiedenen Säuren hingewiesen haben. Dasselbe läßt sich auch von den anderen Hefenrassen Logos und Froberg sagen. Auf Säuren fangen sie nur an zu gären, wenn ihre Zellenanzahl 1000 in 1 cmm erreicht. Aber diese Zahl erreichen sie später, als die Hefe auf säurefreien Substraten. Carlsberg I und Preßhefe gären überall nach 46 Stunden auf säurefreien Substraten, jedoch auf Substraten, welche Säure enthielten, gären sie nur mit Chinasäure, wo auch eine bessere Zellenvermehrung stattfindet.

Auf den übrigen Säuren trat gar keine Gärung ein, da in dieser Zeit die Zellen noch nicht die genügende Zahl von Generationen auf Zucker erlebt hatten, um ihre Gärkraft wiederzuerlangen. Abgesehen davon, daß die organischen Säuren die Vermehrung der Hefenzellen und daher auch die ersten Gärungsanzeichen zurückhalten, ist es auch noch möglich, daß sie die Zymasebildung und die Gärenergie dieses Enzyms beeinträchtigen.

Schon bei der Beschreibung des 6. und 7. Versuches lenkten wir die Aufmerksamkeit darauf, daß *S. ellipsoideus* auf Zitronensäure bei 1220 Zellen in 0,1 cmm angefangen hat, zu gären, auf dem säurefreien Substrat bei 510 Zellen; dieselbe Hefe gäerte auf Äpfelsäure bei 1790 Zellen und bei 870 Zellen auf säurefreiem Substrat. Froberg fing bei 1000 Zellen auf Zitronensäure und bei 640 Zellen auf säurefreiem Substrat zu gären an. So wirken also die organischen Säuren nicht nur auf die Vermehrung der Hefe, sondern auch auf die Bildung der Zymase und auf deren Energie ein.

Versuch 19.

Kontrollversuch mit Hefe auf Säuren und 1,5 Proz. Zucker.

Um den Termin des Anfanges des Gärprozesses und dessen Energie bei Hefenarten, welche nur auf Säuren gelebt hatten, und von solchen, die sich auf Substraten mit Säuren, aber mit Zusatz von Zucker, entwickelt hatten, zu vergleichen, wurde folgender Versuch angestellt. Das Substrat mit Säuren und 1,5 Proz. Rohrzucker (50 ccm in Erlenneyer-Kolben von 300 ccm) wurde aus einer Kultur auf Zuckeragar geimpft. Nach 3-tägigem Stehenlassen im Thermostat bei 25—27° C wurde eine neue Überimpfung auf ebensolche Substrate gemacht. Nach 48 Stunden, als sich ein großer Hefenniederschlag gebildet hatte, wurden die Zellen in der Flüssigkeit gezählt, dann kam ein Teil der Flüssigkeit in die Saccharometer; die fehlende Quantität wurde

bis auf 10 ccm mit frischem Substrat mit Säuren ohne Zucker nachgefüllt. Jedes 0,1 ccm enthielt immer 200 Zellen. Der Zucker war schon früher in die Saccharometer je zu 0,15 g hinzugefügt worden. Wie die Tabellen zeigen, gährte diejenige Hefe, welche sich auf dem Zuckersubstrat entwickelt hatte, die ganze Zeit und die Zymasebildung hörte nicht auf; wenn sie in die Saccharometer mit Zucker kam, setzte sie ihre Gärtätigkeit ohne Unterbrechung fort, weswegen auch kein Stillstand im Ausscheiden von CO_2 stattfand. Schon nach 18 Stunden waren 2—3—4 ccm und nach 24 Stunden bis 5,5 ccm CO_2 ausgeschieden worden.

In den Saccharometern mit Hefenarten, welche lange Zeit auf Säuren ohne Zucker kultiviert waren, fing die Ausscheidung von CO_2 in den ersten 24 Stunden kaum an, und auch noch nicht immer und nicht in allen Saccharometern. In diesem Versuche fällt die Bedeutung des Zuckers in dem Nährsubstrat mit organischen Säuren grell ins Auge.

Versuch 20 und 21.

Kontrollversuche mit der 26. und 27. Kultur auf reinen Säuren.

In einigen Fällen bildete sich oben in den Saccharometern ein kleines Gasbläschen zu einer bestimmten Zeit nach Beginn des Versuches, doch ergab die Untersuchung keine Spur von Gärung und das Aufsteigen selbst kleinster CO_2 -Bläschen. Da nach Neuberg und Tiz¹⁾ lebende und getötete Hefe (Zymin, Hefanal) CO_2 aus den Lösungen organischer Säuren ausscheiden, so war es interessant, zu erforschen, ob das Gas auch aus anderen Kulturen mit unseren Hefenarten und in welcher Quantität ausgeschieden wurde. Das war um so wichtiger, da in die Saccharometer nur eine verhältnismäßig geringe Quantität Hefe, je 200 Zellen in 0,1 ccm und bei Neuberg je 1 g trockener Dauerhefe auf 15 ccm Flüssigkeit gebracht wurde.

Diese Versuche wurden mit 2 Kulturen, und zwar von der 23. und 27. unternommen. Die Hefe der 60 tägigen 26. Kultur wurde mit der Flüssigkeit zusammen in die Saccharometer gefüllt; frisches Substrat wurde aber nicht zugewogen. Hefe aus der 27. Kultur wurde soviel genommen, daß in der Mischung mit frischem sauren Substrate immer 200 Zellen auf 0,1 ccm kamen. Die Saccharometer blieben 3 volle Tage im Thermostat bei 26°—28° C; fast jedes Saccharometer schied ein Gasbläschen aus, so groß, wie ein Stecknadelkopf. Diese Bläschen schieden sich gewöhnlich in den ersten 24 Stunden aus und ihre Größe veränderte sich entweder gar nicht oder nur sehr unbedeutend.

Da im Verlaufe von 3 Tagen auf einigen Säuren die Gasausscheidung so unbedeutend war, so kann man sie völlig ignorieren und braucht keine Korrekturen in den Daten der Versuche mit Zuckerlösungen zu machen. Es sei hier nur noch bemerkt, daß das Erscheinen des ersten Bläschens im Saccharometer mit Zucker noch keinen Beweis für den Beginn von Alkoholgärung liefert.

Untersuchungen auf Zymase.

Aus den vorhergehenden Versuchen war ersichtlich, daß die Hefen, welche lange Zeit auf Mineralsubstraten mit Peptonen und organischen Säuren kultiviert worden waren, beim Übertragen auf Zuckerlösungen sich nur in

¹⁾ Biochem. Zeitschr. Bd. 32. 1911. p. 323.

der ersten Zeit im Verlaufe, von 24 und mehr Stunden vermehrten, und gar keine sichtbaren Gärzeichen das Ausscheiden von CO_2 zeigten. Die Hefenarten aber, die auf demselben Substrat mit Säuren, aber mit einem Zusatz von Zucker kultiviert waren, fingen, in die Saccharometer auf Zuckerlösung versetzt, gleich zu gären an und ergaben nach 18 Stunden bis 4 ccm CO_2 . Die einzige Erklärung für diese Erscheinung ist die, daß die Hefe auf einigen Säuren Zymase nicht bildet, und bei dauernder Entwicklung auf solchem Substrat sich ihre Unfähigkeit zu gären noch verstärkt.

Obschon die Versuche mit den Saccharometern auch auf die Abwesenheit von Zymase in den Hefenzellen von Säuren hinweisen, ist es doch interessant, einen direkten Beweis dafür zu erhalten. Um aber ihre Gärkraft zu beweisen, braucht man viel Hefe. Darum wurde das Umsäen der Kulturen auf Säuren fortgesetzt und nach einiger Zeit wurden mehrere Kulturen auf einmal abfiltriert und zur weiteren Erforschung auf Zymase benutzt. Aus einer ganzen Reihe von Untersuchungen haben wir gesehen, wie schwer es ist, die sich in den Zellen befindende Zymase zu bestimmen, ohne deren Quantität zu verringern und ihre Wirkung zu beeinträchtigen. Besonders empfindlich ist dieses Enzym, solange es noch mit dem Protoplasma verbunden ist; frei vom lebendigen Plasma verträgt es schon viel besser die verschiedenen Einflüsse.

So beeinträchtigt z. B. Toluol, wenn es zu Preßsaft hinzugefügt wird nach den Beobachtungen von Buchner¹⁾ das Ausscheiden von CO_2 nicht, obschon 1 Proz. Toluol in 18 Stunden bei 24 Proz. Hefe tötet und anstatt 3648 Zellen in 1 ccm nur 2 am Leben bleiben. Aber es ist unmöglich, kein Antiseptikum hinzuzufügen, da auf dem Zuckersubstrat die lebendigen Zellen, welche in den Preßsaft dringen, gleich anfangen, eine neue Portion Zymase zu bilden; zieht man dann den Versuch in die Länge, so tritt auch eine Zellenvermehrung ein, woraus es sich ergibt, daß mehr Zymase vorhanden sein wird, als es im Anfange des Versuchs der Fall war. Ganz dasselbe Resultat erhalten wir, wenn wir einfach Preßhefe nehmen und sie entweder mit Aceton bearbeiten oder die Maceration nach Lebedeff²⁾ vornehmen. Da Aceton aber die Zymase recht stark schwächt³⁾, so blieb nur die Macerationmethode übrig. Zugunsten dieser letzteren spricht der Umstand, daß die Hefe bei der verhältnismäßig niedrigen Temperatur von 35° C in 24 Stunden getrocknet wird (beim Trocknen bei Zimmertemperatur ist der Saft schwächer), wobei die Zymase also weniger leidet und das Toluol beeinträchtigt also die Zymase, welche sich im Saft nach der Maceration findet nicht.

Die Hefe von einigen Säuren wurde auf einmal von 8—10 Kulturen auf einem Filter abfiltriert und je dreimal mit destilliertem Wasser durchgespült, um die Säuren zu entfernen; sodann wurde die Hefe mit den Filtern zusammen in den Trockenschrank gebracht, wo die Temperatur allmählich bis auf 350° C gesteigert wurde; bei 35° C trocknete die Hefe 24 Stunden.

Damit die Hefe auf dem Boden des Filters keinen Tropfen bildet, wurde sie vor dem Trocknen an die Seitenwände des Filters gestrichen. Die trockene Hefe wurde dann vom Filter genommen und in Probierröhren gelegt, zu denen noch 20 ccm Wasser hinzugefügt wurden. Diese Probierröhren wurden dann 2 Stunden im Wasserbade bei 35° C zur Mazeration nach Lebedeff gehalten. (Das Gewichtsverhältnis der Hefe zum Wasser [nach Lebedeff

¹⁾ Die Zymasegärung. p. 176—181.

²⁾ Ann. de l'Inst. Pasteur. 1912. p. 8.

³⁾ Herzog und Saladin, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 73. 1911. p. 263.

deff 1 auf 3], konnten wir nicht beibehalten, da sonst zu wenig Saft blieb; er erhielt ca. 30 ccm Saft aus 50 g Trockenhefe.)

Nach dem Filtrieren wurde der Saft zur Untersuchung der Zymase und anderer Fermente, die wir später besprechen wollen, benutzt.

Um Saft zu erhalten, wurden alle Hefenarten und Hefenrassen benutzt, so Carlsberg I, Berlin XII, Logos, Froberg, S. ellipsoideus, Johannisberg II, Preßhefe, Saaz und S. pastorianus.

Zu 10 ccm Saft wurden 0,1 ccm Toluol und 0,5 g Rohrzucker hinzugefügt; diese Mischung wurde in Saccharometer gefüllt, welche dann in den Thermostat bei 25—26° C kamen.

Im Verlaufe von 4 vollen Tagen zeigte keine einzige Hefenart von keiner einzigen Säure das geringste CO₂-Bläschen. Zur Kontrolle stellte ich zur gleichen Zeit Saccharometer mit der nach dem Abfiltrieren zurückgebliebenen Hefe auf. Die Hefenmasse kam in 10 ccm Wasser bei 27° C und 0,1 ccm Toluol; sie wurde gut durchgeschüttelt, um Klumpen zu zerkleinern, dann wurde diese Mischung in Saccharometer mit 0,5 g Rohrzucker gefüllt. In diesem Falle zeigt sich auch in 4 Tagen nicht die mindeste Spur von CO₂.

Dann wurde endlich noch ein Versuch angestellt, der sich von dem vorhergehenden unterscheidet.

Die letzten 7 Kulturen von 7 Hefenarten- und Rassen (ohne S. pastorianus und Saaz) auf Säuren wurden abfiltriert, 3-mal mit Wasser durchgewaschen und bei 35° 24 Stunden lang getrocknet. Die getrocknete Hefe kam in Probierröhren mit 10 ccm Wasser und wurde der Maceration bei 35° 2 Stunden lang unterworfen. Dann wurde in die Probierröhren mit Hefe und Saft direkt (ohne vorläufiges Filtrieren) je 0,1 ccm Toluol hinzugefügt und im Verlaufe von 3—4 Minuten CO₂ durchgeblasen, um die Flüssigkeit damit zu sättigen. Um der Sättigung der Flüssigkeit mit Kohlensäure bei niedrigerer Temperatur als derjenigen, bei welcher die Versuche gemacht wurden, zu entgegen, wurden die Probierröhren in einem Glase mit Wasser von 26°—27° C gehalten. Nach Sättigung mit CO₂ kam der Inhalt der Probierröhren in Saccharometer mit 0,5 g Rohrzucker. In 3 Tagen zeigten sich kleine Gasbläschen so, daß ihre Größe sich nicht bestimmen ließ in 5 Saccharometern mit Johannisberg II von Weinsäure, Preßhefe von Zitronen- und Weinsäure, Berlin XII und Logos von Chinasäure. In den übrigen 30 Saccharometern war keine Spur von Bläschen. Also war auch in diesem letzten Falle keine Zymase in der Hefe auf Säuren zu entdecken.

In den Saccharometern war viel Hefe, besonders in der von Äpfel- und Bernsteinsäure. Im letzten Falle bedeckte die Hefe von diesen Säuren nicht nur den unteren Teil der Saccharometers, sondern stieg auch noch 1—2 cm empor.

Soweit also diese Versuche, die nach der besten Methode, um das Ferment zu schützen, angestellt waren, zu urteilen erlauben, bildet sich keine Zymase in Hefe, welche sich nur auf mineralischen Substraten mit Pepton und organischen Säuren entwickelt hat. Diese letzten Versuche bestätigen ganz entschieden die oben ausgesprochene Voraussetzung, daß die von Säuren genommene Hefe nach 24 und mehr Stunden sich auf Zuckerlösungen vermehrt, aber kein CO₂ bildet und keine Gärung hervorruft, wogegen die Hefe von Zuckerlösungen mit Säuren sogleich zu gären beginnt.

Zur Kontrolle wurde noch ein Versuch mit Hefe von normalem Nährsubstrat angestellt.

Kolben mit 100 ccm Bierwürze, welche 8 Proz. Zucker enthielt, wurden mit 9 verschiedenen Hefenrassen aus Kulturen auf Agar geimpft, und in den Thermostat bei 26°—27° C gestellt. Nach 3 Tagen wurde die Hefe abfiltriert, mit Wasser ausgewaschen, über das Filter gestrichen und 24 Stunden bei 35° getrocknet. Die trockene Hefe wurde in Probierröhren 2 Stunden bei 35° mit 10 ccm Wasser mazeriert. Während der Mazeration wurde der Inhalt der Probierröhren alle halbe Stunden durchgeschüttelt, was auch in allen vorhergehenden Versuchen geschehen war, um die Mazeration zu fördern. Sodann wurde den Probierröhren mit dem Saft und der Hefe noch 0,1 ccm Toluol hinzugefügt und sodann ein CO₂-Strom durchgelassen. Das Sättigen der Flüssigkeit mit Kohlensäure wurde bei 27° C vorgenommen; dann wurden die Saccharometer mit 0,5 g Zucker mit Saft und Hefe angefüllt, mit Watte verkorkt und in den Thermostat bei 25°—28° gebracht.

Die Hefenarten Berlin XII, Logos und Preßhefe bedeckten den unteren Teil der Saccharometer völlig und stiegen noch 1—1½ cm in der Röhre empor; die Hefenarten *S. ellipsoideus*, Johannisberg II, *S. pastorianus* und Saaz waren in geringeren Mengen und endlich Carlsberg I und Froberg füllten nur den unteren Teil der Saccharometer bis zur Biegung der Röhren. Im allgemeinen entsprach die Quantität der Hefe in diesem Kontrollversuche ungefähr der, die wir auf den Substraten mit Säuren erhalten hatten.

Nur Carlsberg I und Froberg auf Äpfel- und Bernsteinsäure ergaben eine viel größere Menge, als die Normalhefe in diesem letzten Falle. (Wie schon früher erwähnt, war die Quantität aller Hefenrassen auf Äpfel- und Bernsteinsäure eine bedeutendere, so daß sie den ganzen unteren Teil der Saccharometer anfüllte und noch um 1—2 cm aufstieg.

Logos fing gleich, nachdem der Saccharometer in den Thermostat kam, energisch an, CO₂ auszuschcheiden; Berlin XII und Preßhefe fingen erst später zu gären an.

Ausscheidung von CO₂, nach Kubikzentimetern bei 26—28° C berechnet.

	Berlin XII	Logos	Frohberg	Saaz	Carlsberg I	Preßhefe	S. ellipsoid.	Johannisberg II	S. pastorian.
Nach:									
20 Stunden .	10	10	0,1	0,15	0,05	10	1,7	0,05	—
44 Stunden .	—	—	0,2	3,2	0,1	—	7,1	0,15	0,1

Dieser Kontrollversuch bestätigt noch einmal die Richtigkeit der Schlußfolgerung, daß die auf organischen Säuren kultivierte Hefe in ihren Zellen keine Zymase enthält.

So erhalten wir also in allen Versuchen mit lebender Hefe, mit deren Saft oder mit abgetöteter Hefe immer dasselbe Resultat; in allen Fällen fehlt die Zymase in Hefen auf Pepton und organischen Säuren; sie bildet sich auch nicht, weil sie unnötig ist.

„Das Zellenprotoplasma scheidet die einen oder die anderen Enzyme, je nach dem Bedürfnis des Organismus, aus, sie koordiniert ihre gegenseitige Arbeit, vernichtet endlich oder macht diejenigen Enzyme untätig, die im gegebenen Moment unnütz sind.“ (Palladin). Diese Enzyme werden nur unter ganz bestimmten Bedingungen ausgeschieden und zwar bei Anwesenheit eines gewissen anregenden Stimulans, das das Zellenprotoplasma reizt.

So ein Reiz ruft bei dem Protoplasma eine gewisse Reaktion hervor, welche sich durch das Ausscheiden der entsprechenden Fermente äußert, und die erste minimale Quantität der Produkte der Tätigkeit der Fermente verstärkt ihre Wirkungsenergie noch mehr.

Jeder Faktor (Zucker in Lösung) ruft die Bildung eines Ferments hervor und veranlaßt die Zelle, noch andere Fermente zu bilden, da die Produkte der Tätigkeit eines Enzyms anregend auf die anderen wirken. So erhält man eine ganze Reihe von Prozessen, die sich aneinanderschließen; es erscheint eine ganze Reihe von Fermenten, welche miteinander verbunden sind. Die Produktion ist eine komplizierte, und in dieser komplizierten chemischen Fabrik wird die Zelle bei jeder folgenden Verarbeitung der Produkte des Rohmaterials, selbst bei Beginn des Prozesses, durch ein streng bestimmtes Ferment geleitet. Jedes Produkt wirkt auf das Protoplasma und dieses letztere verstärkt oder verringert die Bildung des entsprechenden Fermentes, oder versetzt es in einen untätigen Zustand, wenn das nötige Material fehlt.

Man hat es mit einer komplizierten Selbstregulierung bei der Fermentbildung zu tun, einer gegenseitigen Abhängigkeit derselben voneinander und einem komplizierten Einfluß der Produkte der Spaltung in alle übrigen Enzyme (da jedes Produkt im Prozesse des Stoffwechsels Rohmaterial für das entsprechende Enzym ist).

Die Zellentätigkeit verläuft normal, wenn der Prozeß der chemischen Umwandlung ungestört verläuft, wenn sich sozusagen keine Lager von Zwischenprodukten bilden. So ist es in unserem gegebenen Falle; wenn das ursprüngliche Rohmaterial, der Zucker, fehlt, so fehlt auch die Anregung zur Bildung des entsprechenden Ferments, der Zymase.

Oxydase.

Da die veränderten Ernährungsbedingungen der Hefe auch die anderen Enzyme außer der Zymase beeinträchtigen, so wurden auch parallele qualitative Proben auf Oxydase, Reduktase und Katalase gemacht. Zu diesem Zwecke dienten der von der Mazeration (nach Lebedeff) zurückgebliebene Saft und die nach derselben Methode abfiltrierte Hefe. Von dem Saft wurden immer einige ccm gleichmäßig in Probierröhren genommen und nach Zusatz des entsprechenden Reaktivs wurde in jede Röhre Pro-venceröl gegossen, um den Saft vor dem Einflusse des Kohlenstoffes der Luft zu schützen. Die Probierröhren kamen dann in eine Temperatur von 25°—27° C.

Die Hefe wurde in der Quantität einer großen Erbse verwendet, in 3 ccm Wasser zerrührt und im übrigen wurde wie mit dem Saft verfahren.

Grüß, der ganz besonders über die bunten Reaktionen der Oxygenase und der Peroxydase gearbeitet¹⁾ hat, schlug die „Chromogramm-Methode“ vor. — Tetramethylparaphenylendiaminchlorid oder die Tetralösung ohne H₂O₂ wurde auf der Stelle blau, wenn man sie zum Saft aller Hefenarten zusetzte und vor allen Säuren zugoß.

Nach 17 Stunden erhielt man schon eine sehr intensive Färbung. Nach 4 Tagen bekam die Lösung eine leicht rötlich-violette Färbung; sie wurde dabei ganz durchsichtig und flüssig. Eine schwächere Färbung im Vergleich mit den anderen Hefenarten zeigten Berlin XII, Logos und

¹⁾ Ber. d. deutschen bot. Gesellsch. Bd. 20. 1902. p. 212; Bd. 21. 1903. p. 356; Bd. 26a. 1908. p. 192, 620, 627.

Frohberg (vielleicht aus dem Grunde, weil sie in einer geringeren Quantität vorhanden waren und deshalb einen kleineren Niederschlag gaben).

Die Tetralösung ohne H_2O_2 wurde nach Zusatz von Hefe durch die Mazeration gleich blau. Nach 17 Stunden wurde die Färbung noch intensiver; nach 4 Tagen aber verlor der untere Teil der Flüssigkeit in den Probierröhren jegliche Färbung, der obere hingegen war leicht rötlich-violett. Die Hefe von Bernsteinsäure verlor am schnellsten ihre Färbung. Die Hefenrassen Berlin XII, Logos und Frohberg hatten eine schwächere Färbung, als die übrigen.

Paraphenylendiamin oder Ursol-d-Lösung wurde nach Zusatz des Saftes dunkelbraun und nach Zusatz von H_2O_2 noch dunkler; nach 17 Stunden hatte sich in den Probierröhren ein schwarzer Niederschlag gebildet.

Wurde das Filter mit Hefe mit Ursol-d-Lösung begossen, so trat die dunkle Färbung bei der Mazeration sehr rasch ein; sie wurde durch H_2O_2 noch dunkler. Die Hefenrassen Berlin XII, Logos, Frohberg zeigten eine schwächere Färbung, als die übrigen Hefenarten.

So weit man also nach den farbigen Reaktionen mit der Tetralösung urteilen kann, findet Oxygenase- und Peroxydasebildung in allen Hefenarten von allen Säuren, besonders von der Bernsteinsäure, statt; auf organischen Säuren findet also der Oxydationsprozeß bei allen Hefenarten statt.

Reduktase.

Die qualitative Reaktion auf Reduktase beruht auf der Eigenschaft der Reduktase, das Methylenblau wieder herzustellen und dessen Lösung zu entfärben. Es wurde eine schwache Lösung von Methylenblau angewendet und zu dem Saft und der Hefenmischung, welche nach der Mazeration zurückgeblieben waren, wurden 2 Tropfen Chloroform als Antiseptikum hinzugefügt; zu der Flüssigkeit wurde, wie bei der Oxydase, Provenceröl zugegossen ($1^\circ = 25^\circ - 27^\circ \text{ C}$).

Die Lösung von Methylenblau mit dem Saft fing erst nach 17 Stunden an, ihre Färbung zu verlieren; die vollkommene Entfärbung aber trat erst nach 4 Tagen ein. Auf der von der Mazeration übrig gebliebenen Hefe entfärbte sich die Lösung nur sehr langsam, und nach 4 Tagen waren sogar noch Zeichen von Färbung vorhanden. In dem Falle, wo man es nur mit Hefe zu tun hatte, wurde etwas mehr Methylenblau hinzugefügt als zum Saft.

Jedenfalls ist die Quantität der Reduktasen in Hefe, welche auf Pepton und organischen Säuren kultiviert war, eine sehr geringe.

Dieser letzte Versuch beweist auch, daß die Reduktase und die Zymase zwei vollkommen unabhängige und selbständige Enzyme sind.

Die Zellen enthalten keine Zymase, aber es bildet sich Reduktase und verrichtet die Arbeit, die die Zelle zu ihrem Lebensprozeß braucht.

Katalase.

Das letzte Enzym, mit welchem Versuche gemacht wurden, war L o e w s Katalase, deren Rolle in den Zellen bis jetzt noch nicht bekannt ist.

L o e w¹⁾ vermutet, daß die Katalase im Zusammenhang mit den Oxydationsfermenten steht; neben ihrer Hauptrolle, der Fähigkeit, Hyperoxyd

¹⁾ Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 21. 1908. p. 1.

zu zersetzen, spielt die Katalase noch eine zweite Rolle, nämlich die Stoffe entweder zu oxydieren oder wenigstens an dieser Oxydation teilzunehmen.

Z a l e s k y und R o s e n b e r g¹⁾ stellten fest, daß beim Keimen der Weizensamen und auch später bis zu einem gewissen Termine bei intensiverem Atmen die Energie der Katalase zunimmt, daß dann aber dieselbe abnimmt. Die Menge der Katalase steht in keinem Verhältnisse zu dem durch die Atmung hervorgerufenen Gaswechsel. Die Ausscheidung von CO_2 und die Katalasebildung (Ausscheiden von O_2 aus H_2O_2) hängen voneinander gar nicht, ab.

Aus allen diesen Voraussetzungen und Widersprüchen geht hervor, wie wenig die Frage von der Tätigkeit der Katalase erforscht ist.

Die Proben auf Katalase wurden mit dem Saft nach der Mazeration und auch mit Hefe selbst vorgenommen. Das Ausscheiden von Sauerstoff aus H_2O_2 wurde nur im Saft aller Hefenarten auf Bernsteinsäure und bei Johannisberg II und S. e l l i p s o i d e u s auf Chinasäure beobachtet.

Warum keine Katalase in dem Saft der Hefe auf Äpfelsäure gebildet wurde, obschon die Mazeration mit einer großen Quantität solcher Hefe vorgenommen worden war, ist unverständlich. Vielleicht hat man es in diesem Falle mit einer in Wasser unlöslichen Art von Katalase, von der L o e w²⁾ spricht, zu tun.

Alle nach der Mazeration abfiltrierten Hefenarten von allen Säuren schieden vielen Sauerstoff aus Wasserstoffhyperoxyd aus.

Schluß.

Wie man aus den Versuchen ersieht, bildet die Hefe bei ihrer Entwicklung auf Mineralsubstrat mit Pepton und organischen Säuren keine Zymase, vergrößert aber die Quantität der oxydierenden Fermente, besonders auf Bernsteinsäure. Befindet sich die Hefe die ganze Zeit in Lösungen ohne Zucker, so akkommodiert sie sich allmählich den neuen Lebensbedingungen und fängt an, sich rascher zu vermehren (das Impfen auf neue Substrate wurde anfangs nach 1 Monat vorgenommen, aber am Schlusse der Versuche konnte man diese Umimpfungen schon nach 10 Tagen vornehmen).

Wenn man solche Hefenkulturen auf sauren Substraten auf eine Nährlösung mit Zucker überträgt, so fahren sie fort, sich so zu entwickeln, wie sie es auf reinen Säuren und ohne Zucker getan haben; sie haben sich aber viel energischer vermehrt, weil ihnen eine so gute Kohlenstoffquelle in dem Zucker zu Gebote stand.

Nach einer gewissen Zeit, und zwar nach 1-, 2—3 Tagen, bemerkt man auf der Zuckerlösung die ersten Anzeichen aufsteigender Bläschen, den Beginn der Gärung, die anfangs nur sehr schwach ist. Diese schwache Gärung hält lange an, weil offenbar noch nicht alle Zellen die Fähigkeit, Zymase zu bilden, zurückerlangt haben.

Der Beginn des Gärprozesses ist bei verschiedenen Säuren verschieden. Gewöhnlich fängt die Gärung früher und energischer auf Chinasäure an; dann erst auf den übrigen Säuren und am schwächsten auf Weinsäure. Dasselbe ist betreffs der Zellenanzahl auf diesen Säuren mit Zucker zu beobachten.

In den Fällen, in welchen die Zellenvermehrung rascher vor sich geht, tritt auch die Gärung rascher auf. Die Hefe von Säuren, welche sich entwöhnt

¹⁾ Biochem. Zeitschr. Bd. 33. 1911. p. 1.

²⁾ Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 10. 1903. p. 177.

Versuch II. — Kultur 3.
Ausscheidung von CO₂ in Kubikzentimetern in Einhorn's
Saccharometern bei 26—27° C auf Bierwürze mit 10%
Rohrzucker. (Zellenzahl in 0,1 ccm.)

Hefe	Nach Std.	Chinasäure		Zitronensäure		Äpfelsäure		Weinsäure	
		CO ₂	Zellen- zahl	CO ₂	Zellen- zahl	CO ₂	Zellen- zahl	CO ₂	Zellen- zahl
Carlsberg I	0	—	203	—	166	—	241	—	61
	16	0	428	0	304	0	326	0	93
	20	+	806	0	408	0	425	0	118
	24	0,05	1172	+	652	0	551	0	194
	40	10	6456	5,1	4280	0,2	1029	0,05	1018
In Saccharometern:			4800		2960		990		720
S. ellipsoid.	0	—	120	—	221	—	167	—	124
	16	0	561	0	1224	0	812	0	391
	20	0,05	1340	0,1	2504	0	1700	0	440
	24	0,15	4580	0,4	5620	0,15	4080	+	920
	40	10	19440	10	20560	10	16160	5,1	3740
In Saccharometern:			16800		16400		13080		2260
Johannisberg II	0	—	95	—	197	—	127	—	85
	16	0	207	0	303	0	352	0	106
	20	0	780	0	624	0	860	0	216
	24	+	1510	0	857	0,05	1500	0	472
	40	10	8540	3,8	4380	10	10080	4,8	7840
In Saccharometern:			5300		3080		8400		4300
Preßhefe	0	—	122	—	120	—	80	—	
	16	+	296	+	398	0	240		
	20	0,7	684	0,3	1320	0	321		
	24	3,8	5300	2,8	4340	+	669		
	40	10	12020	10	10080	1,6	4480		
In Saccharometern:			13360		9320		4260		

hat, Zucker in Gärung zu bringen, muß erst eine gewisse Anzahl von Generationen auf Zucker erleben, ehe sie die frühere Eigenschaft der Zymasebildung wiedererlangt.

Die nicht gärende Hefe hatte übrigens nicht völlig ihre Fähigkeit, Zucker in Gärung zu bringen, verloren, denn diese erlangte sie nach einer Reihe von Generationen wieder zurück, weil Zellen, welche sich bestimmten Lebensbedingungen angepaßt hatten, sich auch anderen anpassen können. Wegen ihrer geringen Größe und der einfachen Art, sich durch Sprossung zu vermehren, ist die Hefe mehr empfänglich für Einflüsse der Außenwelt, als die höheren Pflanzen. Die neuerlangte Eigenschaft vererbt sich auch auf den Zuckerlösungen fort, aber nach einer Anzahl von Generationen wird sie geschwächt, die Zellen passen sich allmählich den veränderten Ernährungsbedingungen an und beginnen, Zymase auszuschcheiden.

Diese Rückkehr zum früheren Zustande tritt aber nicht bei allen Hefenzellen zu gleicher Zeit auf, sondern nur bei einem Teile derselben, und zwar bei demjenigen, der die neu erlangten Eigenschaften weniger standhaft erhält. In Probierröhren mit 10 ccm geschmolzenem neutralen Agar-Agar (Fleischwasser + 1 Proz. Pepton + 2 Proz. Glukose) wurde je eine Platinöse Hefe aus der 28. und 29. Kultur auf Säuren gebracht. Der Agar-Agar wurde gut gemischt und nach dem Erkalten kamen die Probierröhrchen

Versuch III. — Kultur 3.

Ausscheidung von CO_2 in Kubikzentimetern in Einhorn's Saccharometern bei 26—28° C auf Substrat mit Säuren + 0,25% Rohrzucker.

(Zellenzahl in 0,1 ccm.)

Hefe	Nach Std.	Chinasäure		Zitronensäure		Äpfelsäure		Weinsäure	
		CO_2	Zellen-zahl	CO_2	Zellen-zahl	CO_2	Zellen-zahl	CO_2	Zellen-zahl
Carlsberg I	0	—	162	—	272	—	310	—	218
	15	0	217	0	402	0	358	0	220
	20	0	264	0	421	0	382	0	328
	24	0	364	0	454	0	428	0	333
	39	+	1680	+	1020	+	525	0	331
	48	+	1720	+	1280	+	606	0	437
	63	0,05	1810	0,03	—	+	1100	0	511
	111	0,05	1930	0,03	1760	+	1730	0	720
	In Saccharometern:		1770		1780		1415		642
S. epillisoid.	0	—	153	—	241	—	332	—	229
	15	0	746	0	714	0	1376	0	309
	20	0	963	0	742	0	1780	0	342
	24	+	2420	0	774	+	2040	0	351
	39	0,2	2910	0	2170	0,2	2230	0	466
	48	0,2	3060	0	2580	0,2	2620	0	534
	63	0,25	3060	0	2580	0,23	2650	0	743
	111	0,25	3110	0	3220	0,23	2940	0	760
	In Saccharometern:		2880		2880		2570		680
Johannisberg II	0	—	270	—	220	—	176	—	182
	15	0	660	0	366	0	323	0	209
	20	0	1032	0	470	0	542	0	262
	24	+	1610	0	505	0	690	0	286
	39	0,15	1710	0	1720	0	1580	+	810
	48	0,15	1860	0	1980	0	1620	+	1060
	63	0,25	2040	0	2050	0	1650	0,15	1280
	111	0,25	2620	0	2200	0	1840	0,15	1340
	In Saccharometern:		2230		1980		1790		980
Preßhefe	0	—	154	—	212	—	107	—	
	15	0	358	0	342	0	236		
	20	0	649	0	544	0	401		
	24	+	708	0	884	0	444		
	39	0,15	968	0	1000	0	746		
	48	0,15	976	0	1033	0	821		
	63	0,15	991	0	1066	0	898		
	111	0,15	1310	0	1084	0	1252		
	In Saccharometern:		1200		1200		924		

(45 + 145) in den Thermostat bei 26°—28° C, wo sie 20—30 Tage und auch länger blieben. Kolonien bildeten sich schon am nächsten Tage; ihre Größe war so bedeutend, daß sie mit bloßem Auge zu sehen waren. Die Anzahl der Kolonien auf Agar-Agar schwankte zwischen 5—10—100; in den meisten Fällen betrug sie 60—80, und nur in Ausnahmefällen 200. Bläschen bildeten sich um die Kolonien nur in vereinzelten Fällen nach 48 Stunden, in der überwiegenden Anzahl von Fällen aber nach 3—4 Tagen, in einigen Fällen nach 5—10 und sogar 20 Tagen. Der Prozentsatz der Bläschen im Verhältnis zu der Anzahl der Kolonien schwankte zwischen 2—20—30 Proz.,

Versuch V. — Kultur 10.

Ausscheidung von CO_2 in Kubikzentimetern in Einhorn's Saccharometern bei 25–26° C auf Substrat mit Säuren + 0,5% Rohrzucker.

(Zellenzahl in 0,1 ccm.)

Hefe	Nach Std.	Chinasäure		Zitronensäure		Äpfelsäure		Weinsäure	
		CO_2	Zellenzahl	CO_2	Zellenzahl	CO_2	Zellenzahl	CO_2	Zellenzahl
Berlin XII	0	—	4	—	3	—	5	—	10
	20	0	31	0	25	0	30	0	24
	44	+	100	+	52	+	88	+	134
	68	+	130	+	82	+	93	+	364
	116	+	700	+	562	+	610	0,25	780
In Saccharometern:			610		512		562		680
Logos	0	—	38	—	38	—	50	—	35
	20	0	230	0	110	0	750	0	90
	44	+	1220	0	342	0,25	1210	0	302
	68	0,15	1510	+	1247	0,5	1300	+	750
	116	0,2	1620	0,3	1690	0,6	2060	0,1	1480
In Saccharometern:			1540		1500		1860		1210
Frohberg	0	—	20	—	15	—	32	—	12
	20	0	51	0	29	0	114	0	30
	44	0	1380	0	146	0	762	0	118
	68	0,2	1490	+	500	+	1280	+	560
	116	0,35	1560	0,3	1210	0,35	1310	0,2	1180
In Saccharometern:			1610		1100		1180		990

Versuch VI. — Kultur 10.

Ausscheidung von CO_2 in Kubikzentimetern in Einhorn's Saccharometern bei 25–27° C auf Substrat ohne Säuren mit 0,5% Rohrzucker. (Zum Substrat mit Pepton ist PO_4H_3 bis zur schwachsauren Reaktion hinzugefügt. Zellenzahl in 0,1 ccm.)

Hefe	Nach Std.	Chinasäure		Zitronensäure		Äpfelsäure		Weinsäure	
		CO_2	Zellenzahl	CO_2	Zellenzahl	CO_2	Zellenzahl	CO_2	Zellenzahl
Carlsberg I	0	—	32	—	20	—	22	—	15
	22	0	420	0	302	0	404	0	370
	46	0,03	840	+	730	0,2	1160	+	582
In Saccharometern:			720		580		950		520
S. ellipsoid.	0	—	32	—	51	—	70	—	20
	22	0	1000	+	510	+	870	0	360
	46	0,2	2000	0,4	1420	0,8	2220	0,4	1620
In Saccharometern:			1820		1380		2000		1560
Johannisberg II	0	—	31	—	24	—	78	—	19
	22	0	840	0	290	+	1300	0	110
	46	0,2	1640	0,5	1500	0,65	1730	0,5	1800
In Saccharometern:			1390		1420		1520		1660
Preßhefe	0	—	26	—	21	—	64	—	21
	22	0	480	0	210	0	425	0	581
	46	0,3	920	0,3	1010	0,6	1610	0,4	1600
In Saccharometern:			848		800		1680		1550

Versuch VII. — Kultur 10.

Ausscheidung von CO_2 in Kubikzentimetern in Einhorn's Saccharometern bei 25–26° C auf Substrat mit Säuren + 0,5% Rohrzucker.

(Zellenzahl in 0,1 ccm.)

Hefe	Nach Std.	Chinasäure		Zitronensäure		Äpfelsäure		Weinsäure	
		CO_2	Zellen-zahl	CO_2	Zellen-zahl	CO_2	Zellen-zahl	CO_2	Zellen-zahl
Carlsberg I	0	—	31	—	22	—	32	—	16
	24	0	120	0	93	0	118	0	67
	48	0,05	860	0	542	0	800	0	440
	In Saccharometern:		681		424		695		385
S. ellipsoid.	0	—	36	—	25	—	48	—	22
	24	0	1410	0	160	0	376	0	41
	48	0,3	1670	+	1220	0,05	1790	0	387
	In Saccharometern:		1500		1140		1600		395
Johannisberg II	0	—	29	—	26	—	32	—	20
	24	0	1100	0	108	0	348	0	65
	48	0,3	1700	0	700	0,3	1030	0	740
	In Saccharometern:		1610		620		840		600
Preßhefe	0	—	26	—	21	—	30	—	32
	24	0	120	0	89	0	111	0	82
	48	0,1	630	0	329	0	480	0	345
	In Saccharometern:		581		321		420		326

Versuch VIII. — Kultur 11.

Ausscheidung von CO_2 in Kubikzentimetern in Einhorn's Saccharometern bei 25–26° C auf Substrat ohne Säuren mit 0,5 % Rohrzucker.

(Dasselbe Substrat wie beim Versuch VI. Zellenzahl in 0,1 ccm.)

Hefe	Nach Std.	Chinasäure		Zitronensäure		Äpfelsäure		Weinsäure	
		CO_2	Zellen-zahl	CO_2	Zellen-zahl	CO_2	Zellen-zahl	CO_2	Zellen-zahl
Berlin XII	0	—	18	—	10	—	15	—	14
	24	0	1010	0	530	0	720	+	620
	48	0,15	1300	0,03	910	0,15	1290	0,3	1020
	In Saccharometern:		1200		800		1210		880
Logos	0	—	20	—	22	—	25	—	21
	24	0	1070	+	1000	+	1200	0	450
	48	0,1	1650	0,3	1630	0,3	1710	0,2	1240
	In Saccharometern:		1450		1420		1540		1290
Frohberg	0	—	10	—	10	—	12	—	9
	24	0	600	0	350	0	401	0	305
	48	0,1	1020	+	640	0,35	980	0,15	710
	In Saccharometern:		820		650		1020		638

und stieg nur in seltenen Fällen bis auf 40 Proz. In einigen Fällen zeigten sich gar keine CO_2 -Bläschen bei den Hefenrassen Carlsberg I, Logos und Frohberg von Weinsäure im Verlaufe von 36–38 Tagen, obschon die Anzahl der

Versuch IX. — Kultur 11.

Ausscheidung von CO_2 in Kubikzentimetern in Einhorn's Saccharometern bei 25–26° C auf Substrat mit Säuren + 0,5 Proz. Rohrzucker.

Zellenzahl in 0,1 cmm.

Hefe	Nach Std.	Chinasäure		Zitronensäure		Äpfelsäure		Weinsäure	
		CO_2	Zellenzahl	CO_2	Zellenzahl	CO_2	Zellenzahl	CO_2	Zellenzahl
Berlin XII	0	—	18	—	12	—	15	—	14
	24	0	490	0	100	0	120	0	52
	48	0,1	1210	0	280	0	396	0	76
	72			0	450	0	514	0	129
	96			0	690	0	860	0	425
In Saccharometern:			1080		580		740		420
Logos	0	—	22	—	22	—	25	—	20
	24	0	620	0	160	0	460	0	121
	48	0,1	1960	0	430	0,1	1180	0	1000
	72			0,05	1200			0,05	1250
					1210		1200		1110
In Saccharometern:			1810						
Frohberg	0	—	14	—	10	—	13	—	10
	24	0	210	0	132	0	480	0	91
	48	0,05	910	0	420	0,1	980	0	295
	72			0,05	1000			0	565
					840		1000		498
In Saccharometern:			850						

Versuch XVI. Kultur 26.

Ausscheidung von CO_2 in Kubikzentimetern in Einhorn's Saccharometern bei 25–26° C auf Substrat mit Säuren + 1,5 Proz. Rohrzucker.

Zellenzahl in 0,1 cmm.

Hefe	Nach Std.	Chinasäure		Zitronensäure		Äpfelsäure		Weinsäure		Bernsteinsäure	
		CO_2	Zellenzahl	CO_2	Zellenzahl	CO_2	Zellenzahl	CO_2	Zellenzahl	CO_2	Zellenzahl
Carlsberg I	0	—	110	—	84	—	200	—	60	—	200
	18	0		0		0		0		0	
	24	+		+		+		+		+	
	44	2,2		0,2		1,2		0,2		0,2	
S. ellipsoid.	0	—	200	—	200	—	200	—	170	—	200
	18	0		0		0		0		0	
	24	0,7		+		+		+		+	
	44	4,5		0,8		0,3		0,6		2,0	
Johannisberg II	0	—	200	—	120	—	200	—	200	—	200
	18	0		0		0		0		0	
	24	0,05		+		+		+		+	
	44	4,2		1,3		2,2		1,5		1,5	
Preßhefe	0	—	114	—	150	—	200	—	65	—	200
	18	0		0		0		0		0	
	24	0,15		+		+		+		+	
	44	0,5		0,2		0,2		0,3		2,3	

Versuch XVII. Kultur 26 (Saaz und S. pastorian.-Kultur 1).
Ausscheidung von CO₂ in Kubikzentimetern in Einhorn's
Saccharometern bei 26—27° C auf Substrat mit Säuren +
1,5 Proz. Rohrzucker.
Zellenzahl in 0,1 cmm.

Hefe	Nach Std.	Chinasäure		Zitronensäure		Äpfelsäure		Weinsäure		Bernsteinsäure	
		CO ₂	Zellenzahl	CO ₂	Zellenzahl	CO ₂	Zellenzahl	CO ₂	Zellenzahl	CO ₂	Zellenzahl
Berlin XII	0	—	50	—	65	—	94	—	40	—	148
	18	0		0		0		0		0	
	24	+		0		0		0		0	
	48	5,0		0,05		0		0		0,05	
	70	6,4		0,2		+		+		0,15	
Logos	0	—	174	—	200	—	200	—	122	—	200
	18	0		0		0		0		0	
	24	+		0		+		0		0	
	48	3,2		1,0		4,8		0,05		0,05	
	70	10		5,5		10		0,3		4,0	
Frohberg	0	—	64	—	100	—	130	—	51	—	200
	18	0		0		0		0		0	
	24	+		0		0,05		0		0	
	48	2,2		0,05		0,6		+		0,2	
	70	6,0		0,3		1,2		+		1,1	
Saaz	0	—	200	—	200	—	200	—	55	—	200
	18	0		0		0		0		0	
	24	0		0		0		0		0	
	48	2,5		0		0,05		0		0	
	70	10		+		0,6		+		0,2	
S. pastorian.	0	—	200	—	200	—	200	—	120	—	200
	18	0		0		0		0		0	
	24	+		0		0		0		0	
	48	3,8		0,5		0,5		0		1,0	
	70	10		1,2		5,0		+		5,0	

Kolonien im Agar nicht größer als 10—35 war und sie selbst eine kolossale Größe erreicht hatten.

Das Resultat bei der Hefe ist demnach dasselbe, was Massini, Burri und Klein bei *B. coli mutabile* und *imperfectum* in bezug auf Milch- und Rohrzucker erhalten hatten. Die Mutation bei den Mikroorganismen existiert nicht in dem Sinne von de Vries, da die Notwendigkeit eines plötzlichen Erscheinens neuer Eigenschaften und die Beständigkeit beim Vererben dieser letzteren den darauf folgenden Generationen fehlt.

Bei den Mikroorganismen findet nur Akkommodation an die Ernährungsbedingungen und die anderen Einflüsse der Außenwelt statt; bei Veränderung einer Bedingung oder einer ganzen Gruppe derselben gibt aber der Organismus allmählich seiner Tätigkeit eine andere Richtung und bemüht sich durch das Ausscheiden einer neuen Kombination von Fermenten aus der Verlegenheit zu kommen und seine Existenz fortzusetzen.

Zum Schlusse halte ich es für die angenehmste Pflicht, Herrn Prof. N. N. Chudjakoff meinen innigsten Dank für seinen Rat und seine Anweisung bei meiner Arbeit in seinem Laboratorium auszusprechen.

Versuch XIX. Kultur 2 (auf Substrat mit Säuren + 1,5 Proz. Rohrzucker — 2 Tage alt).

Ausscheidung von CO_2 in Kubikzentimetern in Einhorn's Saccharometern bei 26°C auf Substrat mit Säuren + 1,5 Proz. Rohrzucker.

Im Beginn gleicht die Zellenzahl in den Saccharometern überall 200 in 0,1 cmm.

	Nach Std.	Chinasäure	Zitronen- säure	Äpfelsäure	Weinsäure	Bernstein- säure
Berlin XII	18 24	1,5 4,0	2,0 4,2	0,5 2,3	0,9 3,6	3,1 3,9
Logos	18 24	1,5 3,0	1,0 3,0	3,0 4,7	1,0 4,0	1,2 3,2
Frohberg	18 24	1,5 3,1	1,5 3,1	2,3 4,1	0,7 2,6	1,1 3,2
Carlsberg I	18 24	2,2 3,5	1,6 2,9	1,8 3,4	0,8 2,3	2,5 4,9
S. ellipsoid.	18 24	3,9 5,7	3,1 5,6	3,6 6,0	0,7 2,7	1,6 4,0
Johannisberg II	18 24	2,3 4,0	0,8 3,3	0,8 3,9	0,6 2,2	2,7 5,2
Preßhefe	18 24	3,1 5,5	2,7 4,7	3,0 5,2	2,1 4,0	2,5 5,5

Nachdruck verboten.

Action de la gélatine à diverses concentrations sur les Bactéries et les levures.

[Travail de l'Institut Pasteur de Bruxelles, Directeur Dr. J. Bordet.]

Par H. Kufferath,

Docteur en Sciences naturelles, Ingénieur agricole (Gembloux),
Chef de Laboratoire à l'Institut Pasteur de Bruxelles.

Avec 7 figures.

Nous avons étudié précédemment l'action de concentrations croissantes de gélatine sur des Algues cultivées en culture pure, privées de microbes, „absolute Reinkulturen“ d'après O. Richter¹⁾. Cette étude a fait l'objet d'une communication à la Société Royale de Botanique de Belgique en Mai 1914²⁾. Nous avons donné à cette occasion quelques renseignements au sujet de l'action de concentrations variables de la gélatine sur les microbes, mais nos indications ne concernaient que les propriétés les plus visibles, notamment l'action des microbes liquéfiant, les variations du pouvoir chromogène. Nous basant sur nos recherches avec les algues en culture pure,

¹⁾ Richter, O., Die Reinkultur und die durch sie erzielten Fortschritte vornehmlich auf botanischem Gebiete. (Progressus rei botan. Vol. 4. 1913. p. 303—360.)

²⁾ Kufferath, H., Recherches physiologiques sur les Algues vertes cultivées en culture pure. I. Action de la gélatine en forte concentration. (Bull. de la Soc. roy. de botan. de Belgique. Mai 1914.)

nous avons étudié d'une manière plus approfondie l'action de la gélatine sur les Bactéries et quelques levures. C'est là l'objet du présent mémoire.

Nous avons donné dans notre travail, quelques indications sur les travaux antérieurs de Wolf et de Weigert¹⁾ qui ont expérimenté avec la gélatine à fortes concentrations. Nous renvoyons le lecteur à notre publication antérieure²⁾, où l'on trouvera tous les renseignements que nous avons pu réunir.

Faisons remarquer toute fois, combien il est étonnant que l'on ne trouve dans les traités et ouvrages spéciaux de bactériologie, pour ainsi dire aucun renseignement sur la composition chimique de la gélatine, ce milieu si précieux et si universellement utilisé pour les cultures microbiennes. Les seuls renseignements que nous ayons pu obtenir sur ce sujet, sont ceux donnés par Herold³⁾. Il indique que la gélatine comestible de bonne qualité (généralement utilisée dans les laboratoires) renferme 68 % de glutine, 12,5 % de glucose, 18 % d'eau et 1,5 % de cendres. D'après Skraup et v. Biehler, on trouve parmi les constituents de la glutine et glucose les corps suivants évalués en % de matières sèches: glycocolle 12,4 %, alanine 0,6 %, pyroline 10,4 %, leucine 9,2 %, acide aspartique 1,2 %, acide glutamique 15 %, phénylamine 1 %, oxyrroline 3 %, glutamine 1,8 %, lysine 6 %, histidine 0,4 %, arginine 9,3 %, en tout 66,3 %, le reste étant constitué par des substances non déterminées.

Nous avons utilisé pour nos recherches de la gélatine comestible de première qualité. Les milieux de culture ont été composés comme suit: gélatine à 10 %: 100 cc. de liquide calcique dont nous avons donné la formule dans notre thèse⁴⁾ additionnés de 10 gr. de gélatine; gélatine à 20 %: 100 cc. de liquide calcique additionnés de 20 gr. de gélatine; gélatine à 30 %: 100 cc. de liquide calcique et 30 gr. de gélatine; gélatine à 43 %: 100 cc. de liquide calcique et 43 gr. de gélatine. Ce dernier milieu est difficile à répartir. Nous ne filtrons pas la gélatine, ce qui serait impossible pour les solutions concentrées. Les milieux obtenus ne sont pas clairs. Avant la répartition, on neutralise par la sonde. Nous avons enfin composé une gélatine beaucoup plus concentrée: gélatine à 70 % formée de 100 centimètre cubes de liquide calcique et 70 gr. d'eau. Il n'est pas possible de répartir ce milieu, qui fond difficilement, même à l'autoclave. Pour obtenir les tubes inclinés nécessaires pour les cultures, on opère comme suit, on prend un large tube à essai dans lequel on met 7 grammes de gélatine finement découpée, on ajoute 10 cc. de liquide calcique. Après avoir fait fondre la gélatine à l'autoclave, on neutralise par la sonde concentrée, en ajoutant à chaque tube la quantité voulue de sonde préalablement déterminée par titrage. Après addition de sonde, on stérilise par chauffage répété comme pour la gélatine ordinaire pendant 3 jours à 100°. Les tubes sont inclinés et ensemencés en strie.

Nos recherches ont parti sur les microbes suivants: *Micrococcus pyogenes* (Rosenb.) L. et N., *B. citreus* (Posset) L. et N. (Sta-

¹⁾ Weigert, R., Über das Bakterienwachstum auf wasserarmen Nährböden. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 36. 1904. p. 112—121.)

²⁾ v. Kufferath, ci-dev.

³⁾ Herold, J., Chemiker-Zeitg. 1911. No. 35.

⁴⁾ Kufferath, H., Contribution à la physiologie d'une Protococcacée nouvelle, *Chlorella luteo-viridis* Chodat. (Rec. de l'Institut. botan. Leo Errera. T. 9. 1913. p. 113—319.)

Le liquide calcium est composé comme suit: eau 1000 cc.; NO_3K 2,0 gr.; $(\text{PO}_4)_2\text{Ca}_3$ 2,0 gr.; SO_4Mg 0,5 gr.; SO_4Ca 1,0 gr.; Fe_2Cl_6 twee.

phylocoque citrin), *Sarcina aurantiaca* Flügge, *Bacterium prodigiosum* (Ehrenb.) L. et N., *B. violaceum* (J. Schröter) L. et N., *B. fluorescens* (Flügge) L. et N., *B. coli* (Escherich) L. et N., *B. typhi* Eberth, *Bacillus subtilis* F. Cohn, *B. anthracis* Cohn et Koch, *Saccharomyces cerevisiae* I Hansen, *Prototheca Zopfii* Krüger, *Torula rosea* spec. Nous nous sommes efforcés de choisir dans chacun des principaux groupes de microbes, les espèces les plus caractéristiques, soit par leurs propriétés chromogènes, soit par leur pouvoir liquéfiant, soit par leur forme, soit par leur pathogénicité. Nous examinerons chacune d'elles en détail.

Micrococcus pyogenes β citreus (Posset) L. et N.

Le Staphylocoque citrin que nous avons observés était pathogène et avait été isolé d'un pus. Il poussait bien sur tout les milieux de culture habituels.

Gélatine à 10 %. Après deux jours la culture jaune est assez forte, la liquéfaction débute et détermine la formation d'une grosse goutte de liquide à la base de la strie d'inoculation. La liquéfaction se poursuit et après 15 jours la majeure partie de la gélatine est liquéfiée, les amas microbiens flottant dans le liquide sont abondants et jaunes. Après 1 mois la culture est complètement liquifiée.

Gélatine à 20 %. Après deux jours la culture jaune, assez faiblement développée, est un peu enfoncée dans la gélatine. il n'y a pas de liquéfaction. Après 15 jours, on observe une strie jaune, la culture est forte, la gélatine peu liquéfiée forme une grosse goutte sirupeuse à la base de la strie. Le phénomène est plus marqué après un mois, on constate la formation d'une fosse de liquéfaction le long de la strie, la culture est jaune, la gélatine liquéfiée forme une goutte sirupeuse à la base de la strie.

Gélatine à 30 %. Sur ce milieu les caractères macroscopiques des cultures sont semblables à ceux de la gélatine à 20 %, quoique moins marqués.

Gélatine à 43 %. Après deux jours la culture jaune est très faible il n'y a pas de liquéfaction. Au bout de 15 jours, on voit que la culture jaune faiblement développée s'enfonce peu profondément dans la gélatine, il n'y a pas de liquide de liquéfaction. Il en est de même après un mois.

Gélatine à 70 %. La culture à peu près incolore et très faible, après deux jours, ne produit pas de liquéfaction. Il en est de même après 15 jours. Au bout d'un mois, on remarque que la culture est jaunâtre, faiblement développée, très légèrement enfoncée dans la gélatine. Il n'y a pas de liquéfaction.

Les cultures précédentes examinées au microscope ne montrent aucune différence entre les microbes provenant des diverses concentrations de la gélatine. Tout au plus y a-t-il, dans la gélatine à 70 %, des cellules qui se colorent moins bien par la fuchsine phéniquée; leurs contours sont plus flous que ceux des autres staphylocoques examinés.

En résumé le Staphylocoque citrin ne montre, sur les diverses concentrations de la gélatine, aucune différenciation morphologique. L'action des milieux se manifeste surtout sur le pouvoir liquéfiant, qui diminue rapidement au fur et à mesure que la concentration augmente. Le pouvoir chromogène du Staphylocoque citrin est peu modifié dans ces conditions.

Sarcina aurantiaca Flügge.

Gélatine à 10 %. Après trois jours, la culture forme un faible dépôt de couleur orange, la liquéfaction est forte et détermine la formation d'une profonde fosse de liquéfaction, la gélatine liquéfiée très fluide est amassée au bas de la culture. Après 20 jours la gélatine est très fortement liquéfiée, la culture est fortement développée.

Gélatine à 20 % et à 30 %. Après 3 jours, la liquéfaction est moins forte que dans la gélatine à 10 %. La fosse de liquéfaction mesurant environ 3 millimètres de large est nette mais il y a peu de gélatine liquéfiée. Dans la gélatine à 20 %, le liquide, qui présente un dépôt orangé, coule aisément vers le fond du tube. Dans la gélatine à 30 % le liquide est sirupeux. Après 20 jours, la liquéfaction dans les deux tubes est forte et l'on observe un abondant dépôt orange.

Gélatine à 43 %. Après 3 jours la culture assez faiblement développée forme une fosse de liquéfaction de 2 mm. de large, à la base de laquelle se trouve une goutte très visqueuse de gélatine liquéfiée. La liquéfaction se poursuit, et après 20 jours elle est assez forte mais moindre que celle de la culture sur gélatine à 30 %.

Gélatine à 70 %. Après 3 jours la culture est faible, de teinte orange peu marquée, il n'y a pas de liquéfaction. Après 20 jours, la culture orange est assez faible, il n'y a pas de liquéfaction, mais formation de petits enfoncements dans la gélatine.

Microscopiquement, nous n'avons pas constaté de différences entre les diverses cultures, sauf dans la gélatine à 70 % où les tétrades de sarcine orange, colorée par la fuchsine, n'ont pas la netteté habituelle des contours.

Les réactions présentées par *Sarcina aurantiaca* aux diverses concentrations de gélatines sont très semblables à celles que nous avons trouvées pour le *Staphylocoque citrin*.

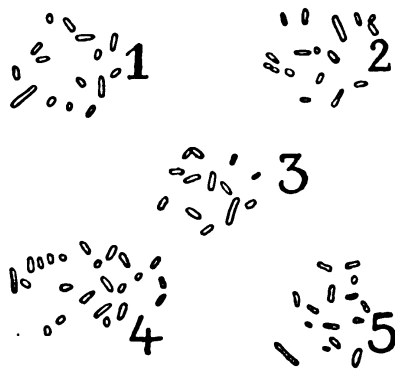
Bacterium prodigiosum (Ehrenb.) L. et N. (Fig. 1).

Fig. 1. *Bacterium prodigiosum*. Cultures âgées de 5 jours: 1. sur gélatine à 10 %; 2. sur gélatine à 20 %; 3. sur gélatine à 30 %; 4. sur gélatine à 43 %; 5. sur gélatine à 70 %. Coloration à la fuchsine phéniquée. Dessin à la chambre claire de Nachet, Nachet Oc. 3, Obj. $\frac{1}{12}$ Imm. homog.

Gélatine à 10 %. La culture après 5 jours est rosée et produit une liquéfaction faible de la gélatine. Au microscope on voit des cellules en batonnets isolés ou accolés par deux, leur longueur varie entre 1, 2, 3, 4 et 5 μ . Peu de cellules mesurent 5 μ de long. Après 9 jours la culture forme un dépôt rosé, la liquéfaction est assez faible. Après 20 jours la culture présente à peu près le même aspect.

Gélatine à 20 %. On observe après 5 jours une liquéfaction assez faible le long de la strie, la fosse de liquéfaction mesurant 3 à 5 mm. Les amas microbiens jalonnent la strie. Le liquide liquéfié est rougeâtre. Au microscope on voit des batonnets ayant les caractères de l'espèce, ils mesurent 1, 2, 3, 4 et 8 μ de long. Peu de cellules mesurent 8 μ de long. Après 9 et 20 jours, la gouttière

de liquéfaction s'est élargie, elle mesure 5 mm. de large, le liquide (environ $\frac{1}{2}$ cc.) présente un dépôt rosé de colonies microbiennes.

Gélatine à 30 %. Après 5 jours la liquéfaction est moins forte que dans les cultures précédentes, la fosse de liquéfaction a 2 à 3 mm. de large, à la base de la strie d'inoculation il y a une goutte sirupeuse de gélatine liquéfiée, dans laquelle on voit des amas rouges. Les cellules examinées au microscope présentent l'aspect connu, leur longueur atteint 1, 2, 3, 4, 5, 6 et 14 μ . Un petit nombre de cellules présentent les longueurs de 2,5, 3 et 7 μ . Après 9 et 20 jours la gouttière de liquéfaction mesure 3 à 4 mm. de large et il y a une très petite quantité d'un liquide sirupeux rosé, parsemé de taches rouges, à la base de la strie.

Gélatine à 43 %. Après 5 jours la liquéfaction de la gélatine produit une fosse de 2 mm. de large, la strie est jalonnée d'amas bactériens rouges, la gélatine n'est pas fluidifiée. Au microscope on observe des cellules de longueur normale ayant 1, 2, 3, 4 et 5 μ de long. Après 9 et 20 jours la gouttière de liquéfaction mesure 2 à 3 mm. de large et présente à sa base un liquide très sirupeux, peu abondant, parsemé de taches rouges.

Gélatine à 70 %. Après 5 jours, il n'y a pas de liquéfaction, la culture est rosé et très faible. Au microscope, les cellules ont des longueurs de 1, 2, 4 et 5 μ , les longueurs de 5 μ sont peu nombreuses. Après 9 et 20 jours, la culture n'a pas liquéfié la gélatine, elle est faible et d'une couleur rose pâle, moins intense que dans les cultures précédentes.

Bact. prodigiosum produit la liquéfaction de la gélatine dans les faibles concentrations de gélatine, ce phénomène ne se produit pas dans les fortes concentrations. La couleur des cultures n'est pas fort modifiée tout ou plus perçoit-on un pâlissement du pigment pour les fortes concentrations. Le développement des cultures est plus marqué dans les tubes de gélatine peu concentrés. En ce qui concerne la longueur absolue des cellules, on constate qu'elle augmente, avec la concentration de la gélatine jusqu'à la dose de 30 p. 100. Pourtant la grandeur de la majorité des cellules varie peu, elle oscille entre 4 et 5 μ pour toutes les concentrations, le seul maximum observé se trouve dans la gélatine à 30 p. 100. Les variations de dimensions des cellules sont faibles, elles augmentent jusqu'aux concentrations de 30 %. Au delà, la longueur totale ne varie plus et est moindre que pour cette concentration.

Bacterium violaceum (Schröter) L. et N. (Fig. 2).

Gélatine à 10 %. Après 5 jours, la culture est bien développée. Il s'est formé une fosse de liquéfaction, large de 3 mm., baignée à la base d'un liquide abondant, clair avec dépôt violet. Au microscope on voit des cellules mesurant de 4, 6 à 8 μ de long. La culture, après 9 jours, forme une large fosse de liquéfaction, le liquide formé est très fluide, il renferme un dépôt violet de Bactéries. Après 22 jours la gélatine est presque complètement liquéfiée, avec un fort dépôt violet.

Gélatine à 20 %. Après 5 jours, on observe les mêmes caractères de culture que dans la gélatine à 10 %. Microscopiquement les cellules sous forme de batonnets isolés ou par deux, mesurent 2, 4, 5 et 6 μ de long. Après 9 jours, le développement de la culture est moindre que dans la gélatine à 10 %, le liquide de liquéfaction est fluide et présente un dépôt violet. Après 20 jours un tiers environ de la gélatine est liquéfié.

Gélatine à 30 %. Après 5 jours, l'intensité de la liquéfaction est moindre que dans les concentrations précédentes, à la base de la fosse de liquéfaction se trouve une goutte de liquide sirupeux avec des masses bactériennes violettes. Microscopiquement, les cellules diffèrent peu de celles de la culture précédente, elles mesurent 3, 4, 5 et 6 μ de longueur. Après 9 jours la gouttière de liquéfaction est faible, la gélatine liquéfiée a une consistance sirupeuse. Après 20 jours le tiers de la gélatine environ est liquéfiée.

Gélatine à 43 %. Après 5 jours la liquéfaction est très faible, la culture peu développée est d'une couleur violette moins forte que dans les tubes précédents. Au microscope, on voit des cellules allongées, plus longues que dans les concentrations plus faibles, elles mesurent en longueur 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12 et 14 μ . La culture, après 9 jours est peu liquéfiée, la fosse de liquéfaction mesure 2 mm. de large, elle est peu profonde, la culture est peu abondante. Après 20 jours, on remarque à la base de la strie une grosse goutte de gélatine liquéfiée, très visqueuse de teinte violette.

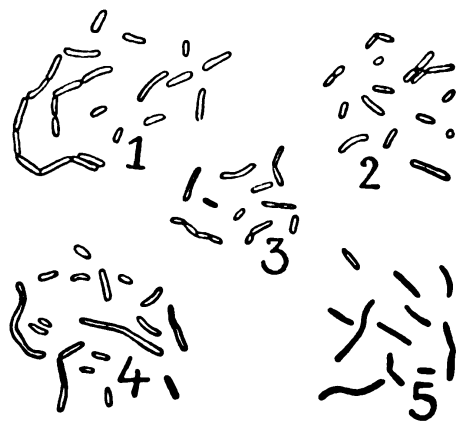


Fig. 2. *Bacterium violaceum*. Cultures âgées de 5 jours: 1. sur gélatine à 10 %; 2. sur gélatine à 20 %; 3. sur gélatine à 30 %; 4. sur gélatine à 43 %; 5. sur gélatine à 70 %. Coloration à la fuchine phéniquée. Dessin à la chambre claire de Nachet, Nachet Oc. 3, Obj. $1/12$ Immers. homog.

Gélatine à 70 %. Il n'y a pas de liquéfaction après 5 jours, la culture très faible, a une teinte violet pâle. Les cellules examinées au microscope sont dégénérées, on observe des batonnets grêles, allongés, peu nombreux se colorant mal par les couleurs habituellement utilisées en bactériologie. Après 9 jours, la culture incolore ne s'est pas développée.

Dans leur ensemble, les résultats obtenus avec *Bact. violaceum* sont plus nets que pour le *Prodigiosus*.

Nous avons signalé, la diminution du pouvoir de liquéfaction corrélativement à l'augmentation de la concentration de la gélatine. La viscosité de la gélatine augmente avec la concentration. Les différences dans la couleur violette ne sont pas très marquées, la culture sur gélatine à 70 % se décolore par suite de la mort des cellules. Les variations de la longueur des cellules, indiquent nettement qu'elle augmente avec la concentration jusqu'à 43 % de gélatine. Enfin disons que l'intensité de développement diminue au fur et à mesure que la concentration augmente.

Bacterium fluorescens (Flügge) L. et N. (Fig. 3).

Gélatine à 10 %. La culture est déjà bien développée après deux jours. La liquéfaction de la gélatine produit à la base de la strie la formation d'une grosse goutte de liquide. Il n'y a pas de fluorescence produite sur le milieu minéral que nous avons utilisé; au contraire sur gélatine au bouillon peptoné la fluorescence caractéristique du microbe se manifeste fortement. Après 3 jours, les cellules, examinées au microscope, se présentent sous forme de courts batonnets, mesurant 1, 2, 3, 4 et 7 μ de long; les cellules ayant 4 et 7 μ de long sont peu nombreuses. La gélatine est entièrement liquéfiée

après huit jours, la fluorescence du milieu ne s'est pas produite. On remarque la production de bulles gazeuses, probablement divers à la réduction des nitrates du milieu de culture. On sait, en effet que *B. fluorescens* est un microbe dénitrifiant.

Gélatine à 20 %. Après 2 jours, on ne constate guère de différences macroscopiques si on compare à la culture précédente. Microscopiquement les cellules ont également le même aspect, nous avons noté les longueurs suivantes: 1, 2, 3, 4 et 5 μ . Les cellules ayant 4 et 5 μ de long sont peu nombreuses. Après 8 jours la gélatine est presque complètement liquéfiée. La liquéfaction est complète après 12 jours, il n'y a pas de fluorescence du milieu; il y a production de bulles gazeuses.

Gélatine à 30 %. Après 2 et 3 jours, on remarque peu de différences macroscopiques différenciant cette culture des précédentes. Tout au plus le liquide formé est-il plus sirupeux. Microscopiquement, les cellules ont le même aspect et les mêmes dimensions que précédemment, elles mesurent 1, 2, 3 et 4 μ de long. Après 8 jours, la liquéfaction le long de la strie est forte, le dépôt est abondant, il y a des bulles gazeuses et pas de fluorescence du milieu. Après 12 jours la liquéfaction est plus forte encore, mais n'a atteint qu'une partie de la gélatine, qui n'est plus entièrement fluidifiée.

Gélatine à 43 %. Après 2 jours, on voit se creuser une fosse de liquéfaction dans la gélatine, elle mesure 2 mm. de large après 3 jours et sans qu'il y ait de liquide formé, ses parois sont visqueuses. Au microscope on observe un notable allongement des cellules. Elles mesurent en longueurs: 1, 2, 3, 4, 22, 32, 38, 50 μ et même plus. Après 8 et 12 jours, la liquéfaction a continué son oeuvre; la gouttière formée mesure de 3 à 6 mm. de large un peu de liquide sirupeux s'est amassé à sa base, où l'on remarque quelques bulles gazeuses. Il n'y a pas de fluorescence.

Gélatine à 70 %. Après 3 jours, la culture est faible, il n'y a pas de liquéfaction de la gélatine. Microscopiquement, les cellules sont plus grêles que dans les autres cultures, il n'y a pas de longues cellules. Les dimensions observées sont de 1, 2, 3, 4, 5 et 6 μ . Après 8 et 12 jours et 1 mois, il n'y a pas de liquéfaction, la culture reste faible et blanchâtre.

Les phénomènes observés chez *B. fluorescens* concordent avec ceux que nous avons signalés déjà pour les autres bacilles: diminution de la croissance et du pouvoir gélatinolytique au fur et à mesure que la concentration augmente. Augmentation de la longueur des cellules jusqu'à la concentration de 43 %. A 70 % de gélatine, la culture végète et les cellules sont atteintes dans leur vitalité. La production de bulles gazeuses (dénitrification) diminue aussi en même temps que la concentration de la gélatine augmente.

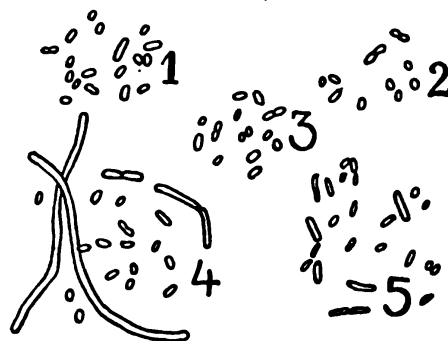


Fig. 3. *Bacterium fluorescens*. Cultures âgées de 2 jours: 1. sur gélatine à 10 %; 2. sur gélatine à 20 %; 3. sur gélatine à 30 %; 4. sur gélatine à 43 %; 5. sur gélatine à 70 %. Coloration à la fuchsine phéniquée. Dessin à la chambre claire de Nachet, Nachet Oc. 3, Obj. $\frac{1}{12}$ Immers. homog.

Bacterium Coli (Escherich) L. et N.

La race de Colibacille que nous avons utilisé est caractérisée par ses formes courtes et trapus. Dans leur ensemble, il n'a pas été possible de noter des différences importantes dans l'aspect des cultures. Les différences ne se marquent qu'après 20 jours et alors on remarque que seule la culture sur gélatine à 70 % est sensiblement moins développée que les cultures à moindre concentration de gélatine. Les variations dans la longueur de cellules sont également peu marquées. Les batonnets courts et trapus mesurent sur la gélatine à 10 %: 1, 2, 3 μ de long; sur gélatine à 43 %: 1 et 2 μ et sur gélatine à 70 %: 2, 4, 6 et 7 μ de long. On remarque qu'il y a un faible allongement des cellules dans les fortes concentrations de 70 %. C'est la seule chose à signaler pour le Colibacille.

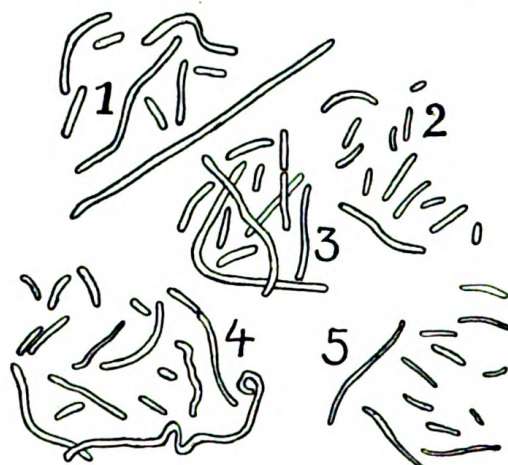
Bacterium typhi Eberth (Fig. 4).

Fig. 4. *Bacterium typhi*. Cultures âgées de 3 jours: 1. sur gélatine à 10 %; 2. sur gélatine à 20%; 3. sur gélatine à 30%; 4. sur gélatine à 43%; 5. sur gélatine à 70%. Coloration à la fuchsine phéniquée. Dessin à la chambre claire de Nachet, Nachet Oc. 3, obj. $\frac{1}{12}$ Immers. homog.

Tout comme pour le Colibacille, on n'observe pas de différences dans l'intensité du développement des cultures du Bacille typhique¹). Seul l'examen microscopique, nous permettra de trouver quelques différences et encore ne doit-on pas oublier que normalement le Bacille typhique produit à côté de formes courtes des formes beaucoup plus longues. Sur la gélatine à 10 %, on observe de longs batonnets droits ou légèrement flexueux, nous avons noté les longueurs suivantes 4, 6 à 40, 44, 50 et 52 μ . Sur la gélatine à 20 % mêmes caractères que ci-devant les longueurs observées sont moins fortes elles sont de 4 à 20, de 24, 28, 32 et 34 μ . Sur gélatine à 30 % les filaments assez longs sont droits ou flexueux, plus épais généralement que dans les cultures

précédentes, les longueurs notées sont de 3 à 20 μ et de 22, 26, 28, 30, 32, 34, 40, 44, 64 et 100 μ . Sur gélatine à 43 %, les cellules sont droites, flexueuses, parfois tardues enroulées brusquement et inégalement, les longueurs observées sont de 3 à 20 et de 22 et 24 μ . Sur gélatine à 70 % les cellules se colorent mal et irrégulièrement par la fuchsine phéniquée, les batonnets ont un aspect grêle, ils sont peu nombreux, droits ou flexueux. Ils sont atteints dans leur vitalité. Les longueurs observées sont de 4 à 20, de 24 et 28 μ .

En résumé, on trouve que la longueur du *B. typhi* augmente notablement sur la gélatine à 30 %, au delà de cette limite les cellules ont la longueur normale. Elles sont endommagées par les fortes concentrations de la gélatine.

¹) Le microbe pousse d'ailleurs peu vigoureusement sur notre milieu gélatiné.

Bacillus subtilis Cohn (Fig. 5).

Gélatine à 10 %. Après 2 jours, la culture est déjà fortement liquéfiée le liquide formé par dissolution de la gélatine est abondant et présente un dépôt blanchâtre. Au microscope, après 3 jours, on observe les cellules de forme typique, se colorant bien par la fuchsine, il n'y a que peu de spores formées. Les cellules sont nettement distinctes et forment de courts filaments. Leur largeur est de 0,5 à 0,75 μ , leur longueur de 3, 4, 6 et 7 μ . Les cellules mesurant 7 μ sont peu nombreuses. Après 8 jours, la gélatine est presque complètement liquéfiée, il y a un dépôt blanchâtre abondant et un voile blanc à la surface du liquide. Après 12 jours, la gélatine est complètement liquéfiée.

Gélatine à 20 %. Après 2 jours, il s'est formé une fosse de liquéfaction le long de la strie, elle mesure 2 à 3 mm. de large. La gélatine liquéfiée forme une petite goutte à la base de la strie. Microscopiquement, après 3 jours, les cellules ont leur aspect normal tel qu'il a été décrit pour la gélatine à 10 %. Il y a seulement un plus grand nombre de spores. Les dimensions cellulaires sont identiques aux précédentes. Après 12 jours la moitié de la gélatine est solubilisée, le liquide forme plus épais que pour la gélatine à 10 %, présente un dépôt et un voile blanchâtre.

Gélatine à 30 %. Après 2 jours, le creux de liquéfaction de la gélatine est moins fort que pour la culture à 20 %, il n'y a pas de gélatine liquide, elle forme un endroit visqueux, dans lequel après 3 jours, on voit des cellules allongées, en filaments plus ou moins longs, la séparation entre les cellules n'est pas toujours nette. Les spores sont assez nombreuses. La largeur des cellules varie de 1 à 2 μ , la longueur de 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10 μ , rarement nous avons vu des cellules de 34 μ de long. Après 8 jours, la culture s'est développée, la liquéfaction produit une strie ayant 5 à 8 mm. de large. Le liquide provenant de la mise en solution de la gélatine est peu abondant, sirupeux, il présente un dépôt et un voile blanchâtre. Après 12 jours la gélatine est fortement liquéfiée.

Gélatine à 43 %. Après 3 jours, la liquéfaction de la gélatine s'est produite le long de la strie, mais il n'y a pas production de gélatine liquide. Les cellules forment de longs filaments les séparations entre les cellules sont peu nettes, les cellules parfois faiblement atténuées à leur extrémité sont flexueuses. Les spores sont assez nombreuses. La largeur des cellules varie entre 1 et 2 μ , la longueur est de 2, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 38, 40, 44, 48 μ . Après 8 et 12 jours, la liquéfaction amène la formation d'une gouttière mesurant 3 à 5 mm. de large, à la base de laquelle se trouve une goutte de liquide sirupeux renfermant quelques petites masses bactériennes blanchâtres.



Fig. 5. *Bacillus subtilis*. Cultures âgées de 3 jours: 1. sur gélatine à 10 %; 2. sur gélatine à 20 %; 3. sur gélatine à 30 %; 4. sur gélatine à 43 %; 5. sur gélatine à 70 %. Coloration à la fuchsine phéniquée. Dessin à la chambre claire de Nachet, Nachet Oc. 3, Obj. $\frac{1}{12}$ Immers. homog.

Gélatine à 70 %. Après 3 jours la culture est faible, il n'y a pas de liquéfaction. Microscopiquement, on voit de nombreuses spores et des cellules de forme anormale, analogues aux formes dites d'involution. Ces cellules ont la forme de larmes, de croissants, elles sont acuminées tardues de façon irrégulière. La coloration par la fuchsine est variable. Les cellules mesurent 3, 4, 6 μ de long, les formes d'involution mesurent souvent 8 et 10 μ de long. Après 8 et 12 jours, la culture est faible blanchâtre. Il n'y a pas de liquéfaction. Après un mois, la culture ne s'est guère développée, mais on remarque qu'elle s'enfonce dans la gélatine.

Bacillus subtilis liquéfiant énergique de la gélatine, se comporte à l'égard des diverses concentrations comme les microbes précédemment étudiés. Pourtant son pouvoir de décomposer la gélatine est si énergique que sur gélatine à 70 %, on observe, après un mois seulement, il est vrai, des enfoncements dans la gélatine. La gélatine est consommée sur place, mais elle ne se liquéfie pas. Si la croissance est moindre à la concentration de 70 %, elle continue pourtant. Contrairement à ce que nous avons pu constater pour d'autres microbes. Wolff avait d'ailleurs remarqué que les repiquages de cultures sur gélatine concentrée ensemencée avec divers microbes, ne donnent pas de colonies microbiennes. Cet auteur avait, par repiquages montré que les fortes concentrations de gélatine, tuent les microbes, ou portent atteinte grave à leur vitalité. La formation de formes d'involution, que nous avons décrites, traduit les mêmes faits.

Les variations de la longueur cellulaire de *B. subtilis* indiquent clairement qu'il y a allongement des cellules au fur et à mesure que la concentration de la gélatine augmente jusqu'au taux de 43 %. Au delà de cette concentration, les cellules conservent leur forme, ne s'allongent plus. Le fait que beaucoup de ces cellules sont mortes, tuées par le milieu de culture défavorable, indique pourquoi elles ne peuvent continuer à croître.

La largeur des cellules augmente en même temps que leur longueur. Les chiffres que nous avons donnés l'indiquent. Ils sont particulièrement intéressants car le *B. subtilis* est un des microbes qui varie le moins dans sa forme. Normalement toutes les cellules sont identiques, bien délimitées.

Faisons aussi remarquer que la formation des spores devient de plus en plus active au fur et à mesure que la concentration de la gélatine augmente. C'est un argument de plus à faire valoir en faveur du caractère défavorable de la gélatine concentrée.

Bacillus Anthracis Cohn et Koch.

Gélatine à 10 %. Après 2 jours la culture est fortement développée, la liquéfaction de la gélatine est très forte, la gouttière de liquéfaction mesure 5 à 10 mm. de large. Le liquide formé est très fluide et abondant (4 cc. environ). Après 15 jours la liquéfaction est complète.

Gélatine à 20 % et 30 %. Après 2 jours la fosse de liquéfaction produite par le microbe mesure 2 à 6 mm. de large. Il y a peu de liquide formé (0,5 cc. environ). Après 15 jours la moitié de la gélatine est liquéfiée.

Gélatine à 43 %. Après 2 jours, on observe une faible liquéfaction le long de la strie, la gouttière de liquéfaction mesure 2 à 3 mm. de large. A la base de la strie, se trouve une goutte de liquide liquéfié. Après 15 jours, la moitié de la gélatine est liquéfiée, mais le liquide formé est plus sirupeux que dans les concentrations inférieures.

Gélatine à 70 %. La culture est faible, blanchâtre après 2 jours; il n'y a pas de liquéfaction. Il en est de même après 15 jours. Après un mois la culture est restée très faible, elle s'est enfoncée d'environ 1 mm. dans la gélatine, mais il n'y a pas de liquéfaction produite.

Nous n'avons malheureusement pas fait l'examen des préparations microscopiques du *Bac. Anthracis*, nous ne pouvons par suite que comparer les résultats macroscopiques avec ceux des autres cultures microbiennes. Les mêmes phénomènes se remarquent dans toutes les cultures liquéfiantes de la gélatine, c'est à dire la diminution progressive du pouvoir de liquéfier la gélatine au fur et à mesure que la concentration augmente. Il y a également diminution dans l'intensité de la croissance.

Saccharomyces cerevisiae I Hansen (Fig. 6).

Macroscopiquement les cultures n'offrent pas de grandes différences dans le développement sur les gélatines des diverses concentrations essayées. Il reste pourtant plus vigoureux sur gélatine à 10 et à 20 % que sur gélatine à 30 et 43 %; l'action de la gélatine à 70 % produit un développement manifestement moindre.

L'examen microscopique de la culture sur gélatine à 10 % et à 20 %, montre au bout de quinze jours des cellules de forme normale ovale ou presque sphérique. Le contenu, après coloration au bleu de méthylène est peu différencié, on perçoit la disposition réticulée du cytoplasme. Nous n'avons pas fait de mensurations, mais les dessins indiquent les grandeurs habituelles et maximales observées.

Sur gélatine à 30 %, après 15 jours, les cellules, fixées puis colorées par le bleu de méthylène, présentent des formes plus allongées, presque mycéliennes. Leur longueur a fort augmenté, si on la compare à celle des cellules normales. Le contenu cellulaire est peu différencié. On constate parfois des cellules plus réfringentes, petites, à membrane épaissie, qui sont des spores.

Sur gélatine à 43 %, après 15 jours, les cellules, colorées par le bleu de méthylène, apparaissent arrondies ou allongées, piriformes. L'allongement des cellules est moindre que dans la gélatine à 30 %. Le contenu cellulaire, compact, homogène se colore en bleu foncé. Il y a un assez grand nombre de cellules qui se colorent difficilement. Il y a ici production nette de spores, les spores étant groupées par 3 ou 4 dans le sporange.

Sur gélatine à 70 %, après 15 jours, les cellules présentent à peu près le même aspect que dans la culture précédente. Pourtant il y a un plus grand nombre de cellules dégénérées, se colorant mal et dont le contenu



Fig. 6. *Saccharomyces cerevisiae* I Hansen. Cultures âgées de 15 jours: 1. sur gélatine à 10 %; 2. sur gélatine à 20 %; 3. sur gélatine à 30 %; 4. sur gélatine à 43 %; 5. sur gélatine à 70 %. Coloration au bleu de méthylène phéniqué. Dessin à la chambre claire de Nacet, Nacet Oc. 3, Obj. $\frac{1}{12}$ Immers. homog.

cellulaire est bleu pâle, non différencié. Les cellules sont ovoïdes ou allongées. Les spores sont assez nombreuses, on en compte 2, 3, 4 par sporange.

Les résultats obtenus avec *Saccharomyces cerevisiae* sont intéressants. D'une part on constate que macroscopiquement il y a peu de différences entre les diverses cultures. Seul l'examen microscopique permet de suivre de près l'influence des concentrations de gélatine. On remarque tout d'abord l'allongement des cellules au fur et à mesure que la gélatine devient plus concentrée. C'est un phénomène analogue à ce que nous avons observé chez les Bactéries¹⁾. Le contenu cellulaire se modifie en même temps. Sur les milieux concentrés, il devient plus homogène, il se concentre, se colore d'une façon plus intense par le bleu de méthylène. Pour les fortes concentrations de gélatine, on observe un grand nombre de cellules dégénérées. Un phénomène remarquable, c'est la facile sporulation dans les milieux renfermant beaucoup de gélatine, alors qu'elle ne se produit pas sur la gélatine ordinaire. On sait les difficultés que l'on rencontre pour faire sporuler les levures de bière; il faut employer des techniques spéciales, cultures sur bloc de plâtre, etc. La facilité de sporulation sur gélatine concentrée (43 à 70 %) permet d'espérer que l'on aura là un moyen plus pratique, moins encombrant pour l'étude de la formation des spores, qui ainsi qu'on le sait est de grande importance pour l'étude des levures. La facilité de la technique permet d'espérer que les cultures sur gélatine concentrée permettront de réaliser plus aisément la production de spores. Il faudra préciser exactement les conditions à remplir par des recherches nouvelles dans cette voie. La pratique pourra peut-être trouver dans cette méthode, un critérium, pour l'étude de la sporulation des levures, pour la recherche de maladies de la bière, du vin, etc.

Prototheca Zopfii Krüger.

De même que pour *Saccharomyces cerevisiae*, on ne constate pas de différences notables dans l'aspect macroscopique des cultures. Seules, les cultures sur gélatine à 70 %, sont faiblement développées.

Dans les préparations, colorées par le bleu de méthylène, après 15 jours de culture, on observe l'augmentation du diamètre cellulaire jusqu'à la concentration de 30 %. Dans les concentrations plus fortes (de 43 et 70 %) il n'y a guère que des petites cellules, les cellules de grande dimension sont peu nombreuses. Nous n'avons pas remarqué s'il y a formation de cellules sporangiales. Le contenu cellulaire se modifie au fur et à mesure que la concentration de gélatine augmente. On voit notamment que les grains métachromatiques rouges qui sont abondants sur les milieux de 10, 20 et 30 % de gélatine, ont fort diminué en nombre et en grandeur sur gélatine à 43 %. Il n'y en a plus sur gélatine à 70 %.

Torula rosea sp. (Fig. 7).

Macroscopiquement cette torula se comporte comme les levures précédentes; les cultures après 15 jours sont assez fortes sur toutes les concentrations de gélatine jusque 43 %. Seule la dose de 70 % de gélatine amène une diminution dans l'intensité du développement.

L'examen microscopique fournit des renseignements plus intéressants

¹⁾ Remarquons que la longueur maximale des cellules se produit dans la gélatine à 30 %.

que l'aspect des cultures. Les préparations fixées sont colorées au bleu de méthylène phéniqué.

Gélatine à 10 %. On voit des cellules sphériques ou un peu ovales dont le protoplasme se colore en bleu. Sur le fond bleu, on distingue colorés en rouge, des grains métachromatiques variables en nombre. Nous en avons compté par cellule 1, 2, 3, 4 et 5. Les dimensions cellulaires expriment soit le diamètre, soit le plus grand axe des cellules. Nous avons noté les grandeurs suivantes 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 et 10 μ . Les longueurs de 8, 9 μ sont peu nombreuses, celles de 10 μ très peu nombreuses.

Gélatine à 20 %. L'aspect des cellules se rapproche de celui de la culture précédente. Les cellules sont sphériques ou ovales, le protoplasme coloré en bleu renferme 1, 2, 3 à 7 et 8 grains métachromatiques rouges, assez gros. Les dimensions observées sont de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 et 10 μ . Seules les grandeurs de 10 μ sont très peu nombreuses.

Gélatine à 30 %. Les cellules sont sphériques ou légèrement ovales. Leur protoplasme est moins fortement coloré que pour les cultures précédentes. Il y a généralement un plus petit nombre de grains métachromatiques par cellule, ordinairement 1 ou 2. Ces grains sont aussi plus gros que ceux observés dans les cultures précédentes, leur grandeur atteint souvent 1 μ en diamètre. Les dimensions cellulaires observées sont de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 et 10 μ ; Celles de 10 μ sont peu nombreuses.

Gélatine à 43 %. Les cellules sont sphériques ou ovales. Le protoplasme est faiblement coloré. Il y a peu de cellules renfermant des grains métachromatiques, qui, le plus souvent, sont peu nombreux, petits et peu nets. Les dimensions cellulaires sont 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14 μ .

Gélatine à 70 %. Les cellules sont petites, presque sphériques. Leur protoplasme est plus ou moins granuleux, non différencié. Il n'y a guère de grains métachromatiques. Les dimensions cellulaires observées sont de 3, 4, 5, 6, 7 et 8 μ .

L'examen microscopique des cellules de *Torula rosea* montre le fait connu, de l'augmentation du diamètre cellulaire jusqu'à la concentration de 43 % de gélatine. Sur la gélatine à 70 %, les cellules sont petites, mal colorées, à protoplasme granuleux. Ces réactions indiquent une vitalité amoindrie. La production des grains métachromatiques est influencée par la concentration de la gélatine. Leur production maximale se fait dans la gélatine à 20 %. Au fur et à mesure que les milieux sont plus concentrés, leur nombre diminue, ainsi que leur grandeur. Nous avons observé un phénomène analogue¹⁾ chez certaines Algues. C'est ainsi que *Stichococcus*



Fig. 7. *Torula rosea*. Cultures âgées de 15 jours: 1. sur gélatine à 10 %; 2. sur gélatine à 20 %; 3. sur gélatine à 30 %; 4. sur gélatine à 43 %; 5. sur gélatine à 70 %. Coloration au bleu de méthylène phéniqué. Dessin à la chambre claire de Nachet, Nachet Oc. 3, Obj. $\frac{1}{12}$ Immers. homog.

¹⁾ v. Kufferath, ci-dev.

membranaefaciens Chodat¹⁾ coloré par le bleu de méthylène phéniqué montre des grains métachromatiques et des grains de vultine dans les faibles concentrations de gélatine. Le nombre et la grandeur de ces grains diminue déjà dans la gélatine à 30 %. Ils sont rares dans la gélatine à 50 p. c. Une autre Algue, *Hormidium dissectum* (Gay) Chodat²⁾ ne présente que des grains de vultine (se colorant en bleu noir par le bleu de méthylène). Ces grains abondants dans les cellules cultivées sur gélatine à 10 %, disparaissent sur gélatine à 30 et 50 %.

Conclusions.

Avant de donner les conclusions à tirer de nos expériences, disons quelques mots sur les résultats obtenus antérieurement.

Nous avons mis la gélatine en solution en utilisant les indications de Weigert³⁾; nous avons effectué nos cultures en tubes à essai. Ainsi que nous l'avons dit nos milieux étaient formés par l'addition à 100 cc. de liquide calcique⁴⁾ de quantités croissantes de gélatine. Les indications: gélatine 10 % etc. . . , que nous avons employées dans les protocoles d'expériences indiquent donc le poids de gélatine commerciale de première qualité ajoutée au liquide nutritif. Mais nous avons dit que la gélatine employée par nous renferme 18 p. 100 d'eau. En admettant cette base pour nos calculs, nous trouvons que le milieu à 10 % renferme 8,2 gr. de gélatine pour l'ensemble; que le milieu à 20 % renferme 16,4 gr.; que le milieu à 30 % renferme 24,6 gr.; que le milieu à 43 % renferme 35,3 % et que le milieu à 70 % renferme 57,4 gr. de gélatine dépourvue d'eau, donc de substance sèche calculée.

D'après Weigert⁵⁾, il n'y a plus de croissance sur la gélatine à 35 % de substances sèches. Cet auteur expérimente avec *Staphylococcus aureus*, *St. albus*, *Bacillus pyocyaneus*, *Proteus vulgaris*, *Bacterium coli* et *Bact. typhi*. Il fit également des essais avec *Bacillus diphtheriae* et *Bacillus tuberculosis*.

D'après nos calculs la dose 35 % de substances sèches correspond à notre solution de 43 % de gélatine. Nous avons en effet trouvé que pour la plupart des microbes que nous avons étudiés cette dose de gélatine entrave le développement normal, mais pourtant ne le supprime pas. Car nous avons constaté pour divers microbes une croissance, faible il est vrai, mais réelle dans la gélatine à 70 % (soit à 57 % de substances sèches). C'est ainsi que nous avons constaté que le *Micrococcus citreus* s'enfonce dans la gélatine à 70 %, et que la culture jaunâtre est faible, de même pour *Sarcina aurantiaca*. Parmi les Bactéries les *Bact. prodigiosum*, *violaceum*, *fluorescens*, *coli* et *typhi* poussent très mal, Le *Bacillus subtilis* s'enfonce dans la gélatine à 70 %, de même pour le *Bac. anthracis*. L'enfoncement de la culture résulte de la digestion de la gélatine. Pour les levures que nous avons essayées, on constate que la croissance, quoique moindre que sur les autres concentrations gélatineuses, n'est pas annihilée sur la gélatine à 70 %.

Il en résulte que nous ne pouvons nous ranger à l'avis de Weigert. Ce que nous pouvons dire c'est que la concentration de 35 % de substances

^{1) 2)} Chodat, R., Monographies d'Algues en culture pure. (Matériaux pour la Flore cryptogamique suisse. Vol. 4. 1913. Fasc. 2.)

³⁾ v. Weigert, ci-dev.

⁴⁾ v. Kufferath, ci-dev.

⁵⁾ v. Weigert, ci-dev.

sèches est limitative d'un développement abondant. Tandis que la mort des cultures n'est atteinte que sur des milieux dont la concentration est voisine de 70 % de gélatine (soit 57 % de substances sèches environ). Nos conclusions se rapprochent donc plus de celles de Wolf¹⁾ qui admettait comme concentration de gélatine limitative de la croissance, la dose de 60 p. c. de substance sèche.

Les opinions, d'apparence divergentes, de Weigert et de Wolf peuvent être conciliées si, se basant sur nos expériences, on dit que la dose de 35 % de substances sèches est limitative d'un développement abondant et que la dose de 57 (60) % de substances sèches limite la croissance absolue des microbes. Weigert avait évalué la vitalité des microbes qu'il étudia par repiquage sur les milieux nutritifs ordinaires. Il constate qu'il n'y avait pas de croissance des microbes prélevés sur gélatine à 35 % de substances sèches. Si nous devons critiquer les expériences de Weigert, nous pourrions faire remarquer que le *Bac. diphtheriae*, le *Bac. tuberculosis* ne convenaient pas, car leur croissance se fait déjà mal normalement sur gélatine. Le *Bac. pyocyaneus* quoique plus robuste, est un microbe assez variable dans ces cultures. De plus, nous avons vu que morphologiquement et physiologiquement, les microbes sont modifiés par leur développement sur gélatine concentrée. Il n'est pas étonnant que profondément modifiés dans toutes leurs propriétés, ces microbes se développent mal quand on les transporte brusquement d'un milieu très concentré de gélatine sur les milieux peu concentrés qui servent habituellement aux cultures bactériologiques. On sait, maints exemples le prouvent, que ces changements brusques et considérables des conditions de cultures sont défavorables aux microbes, et c'est, à ce qu'il nous semble la raison pour laquelle les repiquages sur milieux ordinaires n'ont pas donné de cultures. Les microbes sont tués par les variations trop grandes de leurs conditions de développement. Ajoutons que nos expériences et les résultats obtenus sur gélatine à 70 % indiquent qu'à cette concentration, il y a encore un développement d'un certain nombre de microbes.

Les expériences que nous avons instituées avec diverses algues cultivées en culture pure²⁾, nous ont fournis des résultats intéressants, que nous résumerons ici et qui permettront de mieux suivre l'action de la gélatine concentrée sur les microbes. Les Algues étant des organismes beaucoup plus considérables que les Bactéries, il est facile de suivre sur elles l'influence des milieux.

Nous avons tout d'abord constaté qu'il y a des différences spécifiques de résistance des Algues aux milieux concentrés. Il y a des algues qui se développent sur toutes les concentrations gélatineuses, par exemple *Chlorella luteo-viridis* Chodat var. *lutescens* Chodat, *Chlorella vulgaris* Beijerinck, *Oocystis Naegeli* H. Br., *Oocystis* sp., *Stichococcus membranaefaciens* Chodat, *Stichococcus bacillaris* Naegeli. Toutefois, le développement est meilleur et plus abondant sur les concentrations faibles de gélatine. A côté de ces algues, il en est d'autres qui ne poussent guère sur des milieux gélatinés dont la concentration dépasse 25 ou 30 % de gélatine. Ces algues

¹⁾ Wolf, L., Über den Einfluß des Wassergehaltes der Nährböden auf das Wachstum der Bakterien. [Inaug.-Diss.] Würzburg 1899 (cité par Weigert). Malheureusement, nous n'avons pu nous procurer l'article original de Wolf.

²⁾ v. Kufferath, ci-dev.

sont généralement des espèces plus particulièrement agnotiques, telles que *Chlamydomonas intermedia* Chodat, *Chlorococcum viscosum* Chodat, *Stichococcus lacustris* Chodat, *Horridum floccidum* (Kütz.) Braun f. *nitens*, *H. dissectum* (Gay) Chodat et *H. lubricum* Chodat. Les Bactéries et levures que nous avons étudiées dans la présente note ainsi que *Micrococcus pyogenes* γ *albus* (Rosenb.) L. et N., *Proteus vulgaris* Hauser, *Bacillus mycoides* Flügge, *Saccharomyces anomalous* E. C. Hansen, supportent de fortes concentrations de gélatine, quoique se développant moins bien sur elles.

Tous les végétaux, Algues et microbes, montrant une réduction de la croissance, une diminution dans l'abondance des cultures au fur et à mesure que la concentration de la gélatine augmente. C'est là un phénomène général.

Nous avons soigneusement noté les dimensions cellulaires correspondant, pour chacune de nos cultures, aux diverses concentrations de la gélatine¹). Déjà nous avons constaté la chose pour les Algues. Les recherches que nous avons entreprises sur les microbes, nous ont montré que l'on peut faire une semblable constatation pour ces microorganismes. Sans vouloir nous répéter et citer chacune des expériences que nous avons rapportées, constatons que le maximum de grandeur cellulaire pour les divers microbes que nous avons expérimentés se trouve en voisinage des concentrations de 30 et 43 % de gélatine.

Généralement, nous avons signalé que dans la gélatine à 70 % il y a diminution de la grandeur cellulaire, qui se rapproche de la grandeur normale des cellules.

La petitesse des microbes empêche de constater des différences de réaction aux milieux concentrés de gélatine et les faits que nous venons de rapporter seraient d'interprétation difficile, si nous n'avions auparavant étudié les Algues. C'est en effet un phénomène remarquable et très constant de constater que au fur et à mesure que les concentrations des milieux (en gélatine ou en corps osmotiques) augmentent, il y ait aggrandissement des dimensions cellulaires. On se serait plutôt attendu ou contraire. Voici les raisons de ce phénomène. Nous avons constaté que la sporulation, la formation de zoospores, chez *Chlorococcum viscosum* par exemple, ne se produit que dans les faibles concentrations de gélatine. Pour peu que cette concentration augmente, la sporulation, autrement dit une active division cellulaire, disparaît. L'augmentation de concentration des milieux entrave la division cellulaire. Mais d'autre part le développement végétatif des cellules n'est nullement entravé par des concentrations assez fortes de gélatine. Il en résulte que les cellules ensemencées sur des milieux gélatinés suffisamment concentrés, ne peuvent plus se multiplier, mais sont aptes à se développer végétativement. C'est ce qui explique que les cellules continuent à pousser, à assimiler, à se développer; forcément leurs dimensions doivent augmenter, jusqu'à une certaine limite. Et c'est en réalité ce que nous avons constaté chez tous les microphytes que nous avons étudiés.

L'étude que nous avons faite sur diverses Algues, nous a permis de montrer que l'action des milieux concentrés de gélatine amène dans les cellules des modifications cytologiques. Signalons, parmi elles, l'épaississement

¹) On constate que les dimensions cellulaires augmentent au fur et à mesure que la concentration en gélatine devient plus forte.

des membranes qui augmente avec la concentration, de même un aspect plus réfringent du cytoplasme, qui souvent devient granuleux, de même encore des modifications dans la structure des plastides chlorophylliennes. Nous avons signalé dans cette précédente note, la disparition progressive des granulations métachromatiques et des grains de volutine. L'ensemble de ces phénomènes indique que les milieux concentrés de gélatine exercent une action défavorable sur tous les éléments cellulaires. Nous avons ci-dessus signalé la production de spores résistantes chez divers microbes, tout particulièrement chez *Saccharomyces cerevisiae* I Hansen; également, nous avons constaté que chez les Bacilles (*B. subtilis*), la production de spores résistantes est plus active et plus rapide sur les milieux concentrés de gélatine. Tous ces phénomènes concourent pour prouver que les fortes doses gélatineuses exercent une action défavorable sur les végétaux.

Pour expliquer ces réactions, on a incriminé la pauvreté de la gélatine encore. C'est là l'opinion de Weigert. Il n'est pas possible d'attribuer aux sels de la gélatine l'action inhibitrice de ce milieu sur les cultures. Nous avons vu en effet qu'il y a de 1,5 à 2 p. 100 de sels dans la gélatine. A ces doses, même en supposant que les sels exercent une action osmotique, la pression produite n'entrave pas le développement des cellules. Il ne restait donc qu'à invoquer l'action du manque d'eau dans les milieux concentrés de gélatine. Il nous semble qu'à ce facteur on doit ajouter l'influence de corps organiques azotés complexes. Nous avons indiqué que l'analyse chimique avait décelé dans la gélatine la présence de glutine et de glucose, ces corps complexes représentent 80,5 p. 100 de la gélatine commerciale. Or l'analyse a permis à Skraup et v. Biehler de dire que dans la gélatine et la glucose, il y a de nombreux composés azotés organiques. Parmi les plus important, il y a le glyocolle 12,4 %, la leucine 9,2 %, l'acide glutamique 15 %, l'oxyproline 3 %, la lysine 6 %, l'arginine 9,3 %, la phénylamine 1 %. Il se peut parfaitement que ces corps, dont certains tels que le glyocolle, la leucine sont très favorables au développement des microorganismes dans la gélatine à faible concentration, comme celle utilisée dans la technique bactériologique courante (12 à 15 %), ne le soient plus lorsque la concentration de la gélatine augmente. Il se pourrait donc que ces corps azotés organiques aient une action sur les cellules et produisent certaines modifications cytologiques. Des essais nombreux, nous ont amenés à la conviction, que les corps osmotiques exercent, quand on les utilise en solutions concentrées, des modifications identiques à celles que nous avons observées sur la gélatine concentrée. On observe par exemple l'augmentation du diamètre cellulaire, la production de membranes épaisses gélatineuses, les modifications du cytoplasme cellulaire qui devient corné, granuleux etc. Et il ne serait pas étonnant que les mêmes phénomènes, que nous avons observé sur les milieux concentrés de gélatine, ne se produisissent pas dans ces conditions.

En conséquence, pour expliquer l'action des milieux concentrés de gélatine il nous semble que, jusqu'à plus informé, on doit invoquer d'une part, le manque d'eau (certains organismes ont en effet besoin d'une quantité déterminée d'eau pour vivre) et d'autre part, l'action des composés azotés organiques qui se trouvent dans la gélatine. Il y aurait un moyen de le prouver c'est d'obtenir de la gélatine débarrassée de ces corps organiques azotés. Ce sera là l'objet de recherches ultérieures, sur la difficulté des quelles nous ne nous faisons pas d'illusions.

Referate.

Fünfunddreißigste Denkschrift, betreffend die Bekämpfung der Reblauskrankheit 1912 und 1913, soweit bis Ende 1913 Material dazu vorgelegen hat (die amtlichen Erlasse bis einschließlich 1. April 1914). Bearbeitet in der Kaiserlichen Biologischen Anstalt für Land- und Forstwirtschaft. 138 p. u. 1 Karte. Berlin 1914.)

I. Organisation der Reblausbekämpfung. Die am Weinbau beteiligten Gebiete des Deutschen Reichs sind gegenwärtig in 180 Weinbaubezirke eingeteilt; von denen entfallen auf Preußen 45, Bayern 14, Sachsen 1, Württemberg 6, Baden 6, Hessen 31, Großherzogtum Sachsen 1, Sachsen-Meiningen 1, Anhalt 1, Elsaß-Lothringen 74. Insgesamt sind bis Ende 1912 verausgabt worden für Reblausbekämpfung 23 688 290 Mk. (im Jahre 1912 beliefen sich die Kosten auf 1 199 571 Mk.).

II. Stand der Reblauskrankheit im Reiche. 1. Preußen. In der Rheinprovinz wurden 1912 (42 Reblausherde mit 2251 kranken Stöcken) aufgefunden, auf 16 ha wurden 172 631 Stöcke vernichtet. 1913 38 Reblausherde in den Gemarkungen Münster b. B., Bingerbrück, Urbar, Heddesheim, Dorsheim, Lohrsdorf, Sarmsheim, Langenlonsheim, Damscheid, Oberdiebach, Oberheim, Laubenheim. In Hessen-Nassau 1912 15 neue Herde. 14 in der Gemarkung Lorch mit 1324 kranken Stöcken, 1 in Hochheim mit 7 kranken Stöcken. Auf 5 ha wurden 67 932 Rebstöcke vernichtet, 1913 6 Herde in den Gemarkungen Lorch, Oestrich, Winkel.

2. Bayern. In den fränkischen Weinbaubezirken fanden sich 3 Seuchenstellen bei Kitzingen, 1 bei Sulzfeld und wurden auf 2 ha 11 274 Rebstöcke vernichtet.

3. Württemberg. Die Untersuchungen im Jahre 1912 führten zur Auffindung von 35 Reblausherden (3057 kranke Stöcke) in den Markungen Groß- und Kleinheppach, Hemigkofen-Nonnenbach, Neckarsulm, Oedheim, Kochersteinsfeld, Möglingen, Niedernhall, Ingelfingen. Vernichtet wurden 19 623 Rebstöcke auf 2 ha Fläche.

4. Baden. In der Gemarkung Efringen wurde 1913 1 Herd mit 900 kranken Stöcken entdeckt.

5. Hessen. 1912 wurden 7 neue Reblausherde mit 264 kranken Stöcken auf 5 ha aufgefunden in Bingen, Büdesheim, Dromersheim, Gumbshausen, Kempten, Volxheim. Vernichtet wurden 61 362 Rebstöcke. 1913 fanden sich 2 neue Herde in Bingen und Sulzheim.

6. Elsaß-Lothringen. 1912 wurden in 33 Gemarkungen 238 neue Reblausherde mit 84 267 kranken Reben ermittelt, 218 610 Stöcke auf 21 ha Fläche vernichtet.

III. Stand der Reblauskrankheit im Auslande.

1. Luxemburg. Das Weingebiet wurde in 20 Weinbaubezirke neu eingeteilt, von denen 12 verseucht waren.

2. In Spanien wurde 1913 die Provinz Guadalajara für reblausverseucht erklärt.

3. Schweiz. Im Kanton Aargau brachte das Jahr 1912 eine Anzahl neuer Herde. Eine Übersichtstabelle über den Stand der unmittelbaren Reblausbekämpfung im Jahre 1912 ergibt zusammen 76 573 gerodete Weinstöcke auf 40 590 qm gerodeter Fläche (Minderwertsentschädigung 5168 Fr.). Im Kanton Thurgau hat die Phylloxera seit 17 Jahren keinen Fuß breit

Boden zu ihrem ursprünglichen Besitz erworben. Verseucht sind immer noch 7 Gemeinden, so am Immenberg 183 verseuchte Stöcke gegen 33 im Jahre 1911, am Sonnenberg 150 gegen 20 im Jahre 1911. Seit 1897 sind 440 844 Reblausstöcke zerstört worden. Im Kanton Zürich zählte man 1912 in 26 Gemeinden 247 neue Herde mit 4781 infizierten Stöcken (gegen 57 Punkten mit 143 kranken Reben im Vorjahr). 1886—1912 wurden verseucht gefunden 31 Gemeinden mit zusammen 7451 Reblausherden und 106 638 verseuchten Rebstöcken. Die gesamte Zahl der vernichteten Rebstöcke betrug 731 895 auf 496 594 qm rigolter bzw. gerodeter Fläche und betrugen die Ausgaben 2 056 152 Fr. Auch im Kanton Waadt hat sich der Stand verschlechtert. Während sich 1911 936 Herde mit 34 559 verseuchten Reben fanden und 6,40 ha vernichtet wurden, wurden 1912 ermittelt 2548 Herde mit 128 592 Rebstöcken auf 21 ha vernichteter Gesamtfläche. Die Bekämpfungsarbeiten betrugen 1886—1912 (25 704 Herde mit 1 025 477 verseuchten Stöcken auf 257 ha) 4 365 966 Fr. Im allgemeinen geht die gegenwärtige Neigung in der Schweiz dahin, die Neuanlagen auf franko-amerikanische Unterlagsreben (Aramon \times Repestris, Mourvèdre \times Rupestris und — wenig — Chasselet \times Berlandieri) zu pflanzen.

Kanton Neuenburg. Für 1912 ergab sich eine Zunahme von 318 verseuchten Stellen mit 6649 Reben auf 1,40 ha. Im ganzen wurden ermittelt 502 Herde mit 8889 verseuchten Reben. 1877—1912 fielen der Phylloxera zum Opfer 227 ha, die Bekämpfungskosten betrugen 2 592 325 Fr. Die mit veredelten amerikanischen Reben neu bepflanzte Fläche belief sich 1912 auf 415 ha bei 1040 ha gesamter Weinbaufläche.

4. Österreich-Ungarn. Die im letzten Bericht nachgewiesene verseuchte Fläche hat sich 1910—1912 um 26 454 ha vergrößert. Die neuen Verseuchungen betrafen 188 Gemeinden, von denen auf Niederösterreich 12 mit 408 ha, auf Mähren 9 mit 241 ha, auf Steiermark 39 mit 1833 ha, auf Istrien 4 mit 2570 ha, auf Görz-Gradisca 3 mit 217 ha, auf Dalmatien 117 mit 20 649 ha, auf Tirol 4 und 536 ha entfallen. Der Gesamtumfang des mit veredelten amerikanischen Reben wiederhergestellten Weinpflanzungen betrug Ende 1912 67 448 ha. In den Jahren 1910—1912 betrug die Menge des verabfolgten Schwefelkohlenstoffes 1 335 840 kg Schwefelkohlenstoff und betrug noch der dafür aus Staatsmitteln bestrittene Aufwand 126 622 Kronen.

5. Italien. Die Verbreitung der Reblaus schreitet rasch fort gegen die Gegenden, die man bisher für noch unverseucht hielt. Ende 1912 betrug die Zahl der verseuchten Provinzen 51 mit 2914 von der Reblaus heimgesuchten Gemeinden. Die befallene Fläche wird auf 712 685 ha geschätzt. 1912 wurden 1006 Reblausherde festgestellt, 101 ha Weinbaufläche vernichtet. Die Kosten für die Bekämpfung der Reblaus und den Anbau von amerikanischen Reben betrugen 1911/12 1 024 831 Lire, 1879—1912 23 023 941 Lire.

Für 6. Frankreich, 7. Rußland, 8. Griechenland werden neue Verordnungen mitgeteilt. 9. Türkei. Eine Zusammenstellung der reblausverseuchten Orte zeigt die Verbreitung der Reblausseuche in den Vilajets Konstantinopel, Aidin, Beirut, Jerusalem, Hundavendikar, Karassu, Tschataldja, Archipel, Adrianopel, Saloniki, Kossovo.

10. Serbien (Verordnungen). 11. In Afrika hat sich die Reblaus nicht weiter ausgebreitet. 12. Amerika. Regelung der Einfuhr von Baum-schulenmaterial. 13. Australien. Im Staate Victoria ist die Krankheit in den bereits befallenen Distrikten Rutherglen, Goulburn Valley, Bendigo langsam fortgeschritten.

Ludwig (Greiz).

Mc. Cubbin, W. A., Photographing leaf Spots. (Phytopathology. Vol. 4. 1914. p. 215.)

Blattflecken treten auf Photographien besser hervor, wenn das Chlorophyll etwas mit Alkohol extrahiert wird. **Riehm** (Berlin-Dahlem).

Inhalt.

Original-Abhandlungen.

Buromsky, Iw., Über den Einfluß der organischen Säuren auf die Hefe, p. 530.

Dudtschenko, I. S., Ein im alkalischen Gelatinemedium Purpurfärbung hervorrufernder Micrococcus, p. 529.

Kufferath, H., Action de la gélatine à diverses concentrations sur les Bactéries et les levures, p. 557.

Referate.

Fünfunddreißigste Denkschrift, betreffend die Bekämpfung der Reblauskrankheit 1912 und 1913, soweit bis Ende 1913 Material dazu vorgelegen hat (die amtlichen Erlasse bis einschließlich 1. April 1914), p. 574.

Mc. Cubbin, W. A., Photographing leaf Spots, p. 576.

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagsbuchhandlung **Gustav Fischer** in Jena einzusenden.

Abgeschlossen am 23. November 1914.

Hofbuchdruckerei Rudolstadt.

The Lime-Magnesia Ratio: II. The Effects of Calcium and Magnesium Carbonates on Nitrification.

By **W. P. Kelley,**

Hawaii Experiment Station, Honolulu.

In the first paper of this series the writer presented data on the effects of calcium and magnesium carbonates and the natural limestones on ammonification in Hawaiian soils; in the present paper the effects on nitrification will be discussed.

In these studies three different nitrogenous materials were used, namely dried blood; soy bean cake meal and ammonium sulphate. The dried blood and soy bean cake meal were taken from the same lot that was used in the ammonification studies, and were added at the rate of 2 grams per 100 grams of soil. Ammonium sulphate was added at the rate of 1.2 grams per 100 grams of soil. Preliminary experiments indicated that about 2 per cent of the carbonates would produce maximum effects. This amount of each was used in the experiments presently to be reported.

In addition to some of the soils already described in the previous paper, 4 others were used. Of these No. 288 is a heavy clay soil taken from the citrus orchard of the Hawaii Experiment Station and contains 1.10 per cent CaO and 7.94 per cent MgO; No. 329 is a clay soil from the pineapple section of upland Oahu and Nos. 514 and 515 are highly manganiferous silty soils from the same section and each contains only small percentages of lime and magnesia. A large sample of each soil was secured, which, upon reaching the laboratory, was spread out to dry. After becoming air dry they were thoroughly mixed and sifted through a 2 mm sieve. The analytical portions of a given soil were all weighed out at the same time and the experiments with the different materials were carried out simultaneously.

The nitrogenous materials and the carbonates as shown in the tables were thoroughly mixed with 100 gram portions of the air dried soils, brought to optimum moisture content with sterile water, then placed in tumblers and covered with watch glasses. At intervals of one week the moisture lost by evaporation was replaced with sterile water. After incubating for 21 days at 28 to 30 degrees C. the nitrate was determined by the phenol-disulphonic acid method. The results are recorded in the following tables.

Considering first the series with dried blood it will be seen that calcium carbonate stimulated nitrification in soils 292, 448 and 514, while practically no effects were produced in the remaining soils. Magnesium carbonate, on the other hand, was toxic to some extent in every soil except No. 448.

The series with soy bean cake meal show that calcium carbonate stimulated nitrification in soils 288, 428, 448, 485 and 514, but was toxic in soil No. 515, magnesium carbonate produced only small effects in soils 292, 329, 428 and 448, but was markedly toxic in the other soils, especially Nos. 485, 514 and 515.

**Effects of Calcium and Magnesium Carbonates
on Nitrification.**

(Average mgs. nitrate N. found per 100 grams soil)

Series I. Dried Blood.

Lab. No.	Carbonate added	Soil 288	Soil 292	Soil 329	Soil 428	Soil 448	Soil 485	Soil 514	Soil 515
1, 2	None	12.4	9.6	20.0	3.2	6.2	4.8	28.0	6.5
3, 4	2 gm. CaCO_3	12.5	11.0	19.7	3.6	10.4	2.5	37.0	5.2
5, 6	2 gm. MgCO_3	7.0	5.9	18.0	2.5	6.9	1.2	3.5	1.1
7, 8	2 gm. CaCO_3 } 2 gm. MgCO_3 }	7.2	5.8	17.7	2.7	6.5	1.3	4.2	1.1

Series II. Soy Bean Cake Meal.

9, 10	None	16.2	16.7	21.7	4.5	15.0	45.0	61.0	26.4
11, 12	2 gm. CaCO_3	19.5	14.7	21.0	5.2	22.2	67.0	94.0	11.4
13, 14	2 gm. MgCO_3	9.3	18.2	19.2	4.4	19.0	3.9	15.2	4.1
15, 16	2 gm. CaCO_3 } 2 gm. MgCO_3 }	13.2	18.0	19.5	2.7	15.0	4.3	13.5	4.1

Series III. Ammonium Sulphate.

17, 18	None	4.0	2.1	16.9	1.4	3.4	4.8	7.8	3.5
19, 20	2 gm. CaCO_3	9.1	4.6	15.5	1.6	3.7	7.8	6.1	1.7
21, 22	2 gm. MgCO_3	3.1	0.5	16.7	1.4	3.1	1.8	2.5	1.1
23, 24	2 gm. CaCO_3 } 2 gm. MgCO_3 }	3.2	0.8	16.7	1.8	3.0	2.0	2.4	1.1

In the nitrification of ammonium sulphate calcium carbonate produced considerable stimulation in soils 288, 292 and 485, while in soils 329, 428, 448 and 514 no effects were observed. In this series magnesium carbonate was toxic in soils 288, 292, 485, 514 and 515, but exerted very little effect in any of the other soils. It will be observed that smaller amounts of nitrate were found in each series with soil 515 where calcium carbonate had been added, and also in the dried blood series of soil 485 than in the checks. This may have been due to denitrification, as it has been shown by others¹⁾ that under some conditions calcium carbonate stimulates denitrification.

Generally the synchronous addition of calcium and magnesium carbonates produced similar effects to magnesium carbonate alone. It is especially interesting that, in the soils and with the nitrogenous materials with which calcium carbonate was most stimulating, magnesium carbonate proved most toxic. It is also of interest that on the whole soy bean cake meal gave a higher yield of nitrate than either dried blood or ammonium sulphate, notwithstanding the fact that only 165 mgs of nitrogen was added as soy bean cake meal, while 265 mgs was added as dried blood and 250 mgs as ammonium sulphate. But the comparatively small amount of nitrate formed from dried blood was not due to insufficient ammonification, nor to the toxic effect of an excess of ammonia, for it will be seen by referring to the previous ammonification experiments, that while vigorous ammonification of dried blood took place in these soils, still greater amounts of ammonia were formed in some instances from the soy bean cake meal. On the whole the nitrifying power of these soils is low, especially as regards the nitrification of ammonium sulphate. It is possible that the concentration of ammonium sulphate used was in itself toxic to nitrification, although it has been shown by others that in

¹⁾ See Vogel, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 34. 1912. p. 540—561.

some instances dried blood and other organic nitrogenous substances are more rapidly nitrified than ammonium sulphate¹).

In order to compare the effects of calcareous and magnesian limestones with the pure carbonates, experiments were made with 3 different soils. Two of these, Nos. 292 and 485, have already been referred to; No. 516 is a highly manganiferous soils similar to soil 514. Dried blood was used as the source of nitrogen in the experiments with soil 292, and soy bean cake meal in the experiments with soils 485 and 516. These materials were added at the rate of 2 grams per 100 grams of soil and the same methods followed as in the experiments reported above.

Effects of Calcareous and Magnesian Limestones
on Nitrification.

(Average mgs. nitrate N. found per 100 grams soil).

Series IV.

Lab. No.	Carbonate added	Soil 292	Soil 485	Soil 516
1, 2	None	9.6	44.5	13.0
3, 4	2 gm. CaCO_3	11.8	67.0	9.0
5, 6	2 gm. MgCO_3	8.7	3.8	5.3
7, 8	1.1 gm. CaCO_3 } 0.9 gm. MgCO_3 }	9.8	8.2	6.4
9, 10	2 gm. Limestone (CaCO_3)	9.3	60.0	10.0
11, 12	2 gm. Dolomite	10.3	70.0	13.1

Again calcium carbonate stimulated nitrification to a small extent in soil 292 and to a more marked degree in soil 485, but depressed the yield of nitrate in soil 516. Magnesium carbonate was toxic in each instance. In soil 485, for example, only 3.8 mgs nitrate accumulated where 2 per cent magnesium carbonate was added, while 67.1 mgs was formed under the influence of calcium carbonate. In this series the pure carbonates, when applied synchronously, were added in the proportions in which they occur in dolomite; but the effects on nitrification were similar to, although somewhat less toxic, than were produced by magnesium carbonate alone. The reduced toxicity as compared with magnesium carbonate alone was not due to antagonism however but is referable to the smaller amounts of magnesium carbonate added. The natural limestones, on the other hand, produced similar effects to calcium carbonate. It is especially interesting that dolomite produced marked stimulation in soil 485, in which magnesium carbonate was extremely toxic, and that dolomite was not toxic in any case.

Discussion.

In the previous paper the writer has shown, that magnesium carbonate stimulates the ammonification of dried blood and soy bean cake meal in certain Hawaiian soils to a considerably greater degree than calcium carbonate; with still other soils no effects were produced, while in a sandy soil magnesium carbonate was markedly toxic to ammonification. In the last named soil the effect of magnesium carbonate was similar to that previously found in experiments with a sandy soil from California²). It was also found that pulverized

¹) See Brown, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 35. p. 248—272; Temple, Ga. Expt. Sta. Bull. 103. 1914.

²) U. o Cal Pub. Agr. Sci. L. 1912. p. 39—49.

magnesian and calcareous limestones each produced similar effects to calcium carbonate. In the sandy soil, for example, in which magnesium carbonate was toxic to ammonification, but calcium carbonate without effect, neither the magnesian nor calcareous limestone produced any effect. Likewise in two other soils, in which magnesium carbonate stimulated ammonification magnesian limestone again produced practically no effects. Finally no antagonism was found between calcium and magnesium carbonates.

It appears, therefore, that magnesium carbonate may exert a very different effect on the ammonifying flora of soils from that of calcium carbonate or the natural limestones.

It was also shown, that magnesium carbonate caused the loss of only slightly more ammonia from the sandy soil than calcium carbonate, whereas the amount of ammonia actually formed was much greater when calcium carbonate was added.

The fact, that magnesium carbonate stimulated the ammonification of dried blood in a soil, which already contained abnormally large amounts of magnesium, is especially interesting. The magnesium in Hawaiian soils occurs largely as hydrous silicates, and although present in much greater amounts than calcium, it is considerably less soluble in dilute acids and water. Consequently the concentration of magnesium in the natural soil solution is probably not as great as that of calcium.

As shown by the data above, calcium carbonate stimulated nitrification in about 50 per cent of the soils studied, while in the other soils no effect or a slight decrease in the yield of nitrate was produced. Magnesium carbonate, on the other hand, was markedly toxic in a number of instances and stimulated nitrification in only two soils, No. 292 and 448 with soy bean cake meal. It is of special interest to note, that magnesium carbonate was most toxic to nitrification in the soils, in which calcium carbonate was most stimulating. This might be taken as evidence of there being an optimum limemagnesia ratio for nitrification were it not for the fact, that the synchronous application of the two carbonates generally produced the same effect as magnesium carbonate alone. Moreover, magnesian limestone produced similar effects to calcareous limestone or pure calcium carbonate.

From the foregoing it is probable, that the stimulating effects of magnesium carbonate, on the one hand, and the toxic effects on the other, were not due to variations in the ratio of lime to magnesia present, but rather to increases in the concentration of the magnesium in solution and to double decompositions. As pointed out in the previous paper the effects of magnesium carbonate on the reaction of these soils were probably of secondary importance to ammonification. Its toxicity to nitrification, however, may have been due in part to the maintenance of excessive alkalinity¹⁾.

Hawaiian soils, as shown in a different connection, have a remarkably high absorptive capacity for soluble substances²⁾. Potassium when added as the sulphate, for instance, becomes fixed in relatively large amounts, but at the same time corresponding amounts of calcium and magnesium are set free; soluble calcium salts liberate considerable amounts of potassium. Consequently, in all the soils studied, with the possible exception of No. 335, soluble salts of magnesium- in this case magnesium-carbonate and the organic salts

¹⁾ Further investigation on this point is being made. See L ö h n i s and G r e e n , Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 40. 1914. p. 470.

²⁾ See M c G e o r g e , Hawaii Sta. Bull. 35.

formed by the interaction of magnesium carbonate and organic acids that arose in the decomposition of the organic materials added — were probably fixed to a considerable extent through double decompositions, thus setting free potassium, sodium and calcium. Therefore, the concentration of the several constituents in the soil moisture would be greatly changed as a result of adding magnesium carbonate. Since comparatively large amounts of magnesium carbonate were added, it is reasonably certain, that the concentration of magnesium in solution was also increased. Such changes would probably affect bacterial action.

The sandy soil (335) is composed mainly of grains of coral sand, it contains more than 80 per cent CaCO_3 and very little silicate. Upon adding magnesium carbonate to it, it is reasonable to suppose, that the principal change brought about would be in the nature of an increase in the concentration of the magnesium, and that the soil moisture would contain an excess of magnesium over the other bases in solution. The toxicity to ammonification was probably due to this fact¹).

From the foregoing we may conclude then, that the ratio of lime to magnesia is not of great importance to the action of the ammonifying and nitrifying floras of these soils, but rather, that the concentration of the magnesium in solution and its relations to the concentration of the other constituents in solution are of more importance. Hence the effects of magnesium carbonate on bacterial action in different soils are probably of a complex nature. That no effects on ammonification were produced by magnesian limestone is probably due to its insoluble nature, while the stimulating effects on nitrification may be ascribed to the maintenance of neutral conditions.

It will be observed from the data, that the effects of magnesium carbonate depended, in some instances, on the nitrogenous material being acted on. In the nitrification of dried blood in soil 292, for example, it was distinctly toxic, while slightly stimulating to the nitrification of soy bean cake meal. In fact magnesium carbonate was generally more toxic to the nitrification of dried blood and ammonium sulphate than of soy bean cake meal. A complete explanation of this fact is not apparent. It has been suggested, however, that an important factor was nitrate assimilation. Magnesium carbonate is known to favor the growth of moulds, throughout this investigation it was noticed that the growth of moulds was manifestly stimulated by magnesium carbonate, and in such instances a stronger reaction for nitrite was sometimes obtained. The nitrate found, of course, represents the difference between the nitrate formed and that converted into protein by nitrate consuming organisms or decomposed by the denitrifiers, and it is possible, that the growth of such organisms was unequally affected by the materials used. The organic acids formed in the decompositions probably differed, which in turn led to the formation of different organic salts of magnesium; but the specific effects of such salts on nitrification are not known.

It is of special practical interest, that magnesian limestone was found to stimulate nitrification and in no instance was it toxic either to ammonification or nitrification. The striking contrast between the effects of magnesium carbonate and the natural magnesian limestone was probably due mainly to

¹) The toxic effects found in the experiments with the sandy soil from California, loc. cit. may be explained in the same way.

the insoluble nature of the latter material, its action being confined largely to the maintenance of neutral conditions, as suggested above.

Although most of these soils contained exceedingly small amounts of carbonate, the addition of calcium carbonate¹⁾ failed to stimulate nitrification in a number of instances, and in general calcium carbonate was more effective in the nitrification of soy bean cake meal than of dried blood or ammonium sulphate. The inefficiency of calcium carbonate was probably due to the unusually high percentages of iron and aluminum hydrates present, which according to Ashby²⁾ may take the place of carbonate in maintaining the neutral condition so essential to nitrification.

Summing up the above it may be said that the evidence to date points to the conclusion, that the lime-magnesia ratio is not of great importance in bacterial action, but that the concentration of magnesium in solution and its relations to the concentration of the other constituents are of great importance³⁾. Further investigation on the effects of different calcium and magnesium salts is being made.

Nachdruck verboten.

Die Ernährung des Milchviehs und die hygienische Produktion der Milch.⁴⁾

Erfordernis einer bakteriologischen Kontrolle der Futtermittel.

Von Prof. Dr. Constantino Gorini,

Direktor des bakteriologischen Instituts an der K. landw. Hochschule zu Mailand.

Wie aus mehreren meiner früheren Arbeiten hervorgeht⁵⁾, beschäftige ich mich seit längerer Zeit mit der hygienischen Produktion der Milch im Hinblick sowohl auf den direkten Verbrauch als auch auf die Verarbeitung derselben, wobei ich meine Untersuchungen besonders auf diejenigen dunkeln oder strittigen Punkte richte, über die meiner Ansicht nach die Bakteriologie am besten oder eher als andere Wissenschaften neues Licht verbreiten und neue Verfahrensweisen zeigen kann. Einer dieser Punkte betrifft die Ernährung des Milchviehs und besonders den Einfluß gewisser Futtermittel auf die Eigenschaften der Milch.

Ich habe diesen Gegenstand schon in meinen Studien über die in Silos eingelegten Futtermittel oder das Sauerfutter berührt und gezeigt, wie die

¹⁾ Peck found that calcium carbonate stimulates nitrification in some of the sugar soils of Hawaii. See Hawaiian Sugar Planters Sta. Bull. 37 and 38.

²⁾ Journ. Agric. Scienc. 2. 1906. p. 52—67.

³⁾ Cf. Gile, Porto Rico Sta. Bull. 12. 1912; Tottingham, Physiol. Res. 1. 1914. p. 133—245.

⁴⁾ Aus einer Mitteilung an das „R. Istituto Lombardo di Scienze e Lettere“ (26. März 1914.)

⁵⁾ Vgl. besonders:

a) Meine 7 Berichte „Ricerche batteriologiche sui foraggi conservati nei silos“, veröffentlicht im „Annuario dell' Istit. Agrario Ponti“, herausgeg. von der Kgl. Landwirtschaftl. Hochschule zu Mailand (Jahrg. 1904 ff.).

b) Meine Mitteilungen an das „R. Istituto Lombardo di Scienze e Lettere“ über die Hygiene des Melkens („Rendiconti“ 1906. p. 236), über das Melken mit Melkmaschinen („Rendiconti“ 1909. p. 252), über die Milchsäurebakterien in den Abgängen der Kühe („Rendiconti“ 1910. p. 777), über die Zuckerrübenpulpe („Rendiconti“ 1911. p. 1004) usw.

ungünstige Meinung, die der Gebrauch derselben hinsichtlich der gesundheitlichen Beschaffenheit der Milch und der Molkereiprodukte erweckt, begründet ist in Einflüssen bakterieller Natur, die sich bei dem direkten oder indirekten Eindringen der Mikroflora dieser Futtermittel in die Milch während des Melkens geltend machen.

Ich habe sodann meine Nachforschungen auf andere Futtermittel ausgedehnt, welchen mehr oder weniger verderbliche Rückwirkungen auf die Eigenschaften der Milch zugeschrieben werden. Auf diese Weise bin ich in den Besitz von Tatsachen gelangt, die darauf hindeuten, daß auch diese Rückwirkungen wesentlich mikrobischer Natur sind, und Maßnahmen ratsam erscheinen lassen, die das Übel an der Wurzel angreifen und als wirkliche Vorbeugungsmittel gelten müssen.

Gewöhnlich wird, da die Verunreinigung der Milch vom Schmutze herrührt, von allen Seiten das Reinigen, ja, wo es möglich ist, die Desinfektion der Milchkühe, der Ställe, der Melkeimer empfohlen.

Das ist ja gut, aber würde es nicht noch besser sein, die Ursachen der Beschmutzung und der Infektion sowohl des Rindviehs, als auch der Räumlichkeiten und der Geräte zu beseitigen oder wenigstens einzuschränken?

Ich habe daher nachgeforscht, welches die schlimmsten Ursachen der Beschmutzung sind und wie sie zu beseitigen sind.

Wie ich bemerkt habe, bilden einen der gefährlichsten Wege zur Infektion der Milch die Faeces der Kühe, sowohl wegen der Quantität und der Qualität ihrer Mikroflora, als auch wegen der praktischen Schwierigkeiten, ihr Eindringen in die Milch während des Melkens zu verhindern.

Die Mikroflora der Faeces rührt aber bekanntlich von den dem Körper zugeführten Stoffen her. Es ist ja durch die Erfahrung bestätigt worden, daß, wenn man ein kleines Kind oder irgendein Tier mit sterilisierter Milch oder mit sterilisierten Speisen oder sterilisiertem Trank nährt, man Exkremente erhalten kann, die frei von Keimen sind.

Als logische Folgerung würde ich daher anempfehlen, dem Rindvieh nur steriles, keimfreies Futter darzureichen; dies würde aber in der Praxis unmöglich sein. Es müßte daher genügen, daß der Mikrobengehalt der Futtermittel nicht der Beschaffenheit der Milch und ihrer Verarbeitung schädlich ist.

Wenn wir nun von den Mikroben spezifischer Krankheiten absehen, welche vor allem von menschlichen Übertragungen herkommen, so sind die schädlichen Mikroben, die von den Faeces des Rindviehs herrühren, hauptsächlich die gasbildenden und die fäulnisserregenden Bakterien.

Es ist daher den Futtermitteln mit vorwiegend gasbildender und fäulnis-erregender Mikroflora nicht zu trauen, da sie die Abgänge der Milchtiere und von diesem aus die Milch reichlich mit Keimen versehen, die sowohl für die Gesundheit der Verbraucher als auch für das Gelingen der Molkereiprodukte schädlich sind.

Aber solche Futtermittel sind, wie ich schon bei meiner Erörterung über das Sauerfutter hervorhob, außerdem noch durch die Art der Beschmutzung bedenklich, weil sie durch die Wirkung ihrer Mikroflora anormale intestinale Gärungen hervorrufen, welche die Konsistenz der Fäkalstoffe vermindern, so daß sie diarrhöische Faeces zuwege bringen. Je weniger konsistent aber die Exkremente sind, um so intensiver, durchdringender und weiter verbreitet sich und desto zäher ist die Beschmutzung der Kühe und des Stalles und um so leichter ist dann auch das weitreichende Verspritzen von Fäkalteilchen in die Behälter, auf die Geräte, auf die Leute usw. und um so schwerer könne

Vieh, die Räumlichkeiten, das Personal und die Gegenstände geschützt und gesäubert werden.

Auf Grund dieser Erwägungen habe ich mir die verschiedensten Futtermittel herbeizuschaffen versucht, um die darin vorherrschende Mikroflora zu bestimmen und sie nach ihrem Verhalten und ihrem Einfluß auf die Milch zu studieren. Diese Untersuchungen sind seit einiger Zeit begonnen worden und werden noch fortgesetzt; die erlangten Resultate veranlassen mich aber, schon jetzt darauf aufmerksam zu machen, daß die Futtermittel mit verderblicher Mikroflora zahlreicher sind und häufiger verwandt werden, als man nach den Erfahrungen der Praxis glauben sollte. Ich habe solche nicht nur unter den in den Silos aufbewahrten Futtermitteln, sondern auch unter den frischen Kraut- und Heuarten vorgefunden. Es handelt sich dabei aber nicht immer ausschließlich um Futtermittel, die welk, verfault, schimmelig waren, sondern diese zeigten vielmehr oft ein normales Aussehen. Besonders infiziert erwiesen sich gewisse Futtermittel, denen die Landwirte und die Käser ungünstige Rückwirkungen auf die Milch zuschreiben, nämlich solche von sumpfigen oder morastigen Böden, schlecht nivellierten, bewässerten Wiesen und Rieselfeldern, sowie um solche, die infolge anhaltenden Regens mit Erdrreich beschmutzt sind, um schlecht getrocknetes und schlecht gegorenes Heu, Kräuter, die zu lange auf Karren aufgehäuft gewesen sind usw. Offenbar sind es die anormalen Macerationen und Gärungen, die eine Anreicherung der verderblichen Mikroflora hervorrufen.

Wahrscheinlich aus analogen Gründen sehr beschmutzt fand ich auch viele Industrie-Rückstände aus Zuckerfabriken, Bierbrauereien, Destillieren, Ölwerken, Mühlen, Stärkemehlfabriken usw., welche in der Form von Pulpe, von Melasse, Schlempe, von Trebern, von Kleie, von Kuchen als Ersatzfuttermittel gebraucht werden.

Sehr oft bin ich erstaunt gewesen, wie gewisse Materialien ohne offenkundigen Nachteil für die Darmfunktionen dargereicht werden konnten, bis ich sah, daß die Quantität solcher Futtermittel sehr gering war im Vergleich zu der Menge der andern gereichten, und als ich in einigen Fällen feststellen konnte, daß diese andern Futtermittel eine Mikroflora hatten, die vorwiegend aus Milchsäurebakterien bestand und somit eine energische Bekämpferin der gasbildenden und fäulnisserregenden Mikroben war.

Deshalb will ich hier den Rat wiederholen, den ich schon bei der Besprechung der in Silos eingelegten Futtermittel gegeben habe, daß man nämlich die oben erwähnten gefährlichen Futtermittel wenigstens sparsam benutzt, sie reichlich mit gesunden Futtermitteln verdünnt.

Am besten ist es, in zweifelhaften Fällen die Futtermittel einer zymoskopisch-bakteriologischen Kontrolle bezüglich ihres Einflusses auf die Darmfunktionen und auf die Beschaffenheit der Milch zu unterwerfen, wie ich das auch für die eingelegten Futtermittel vorgeschlagen habe. Zu beachten ist dabei, daß weder die organoleptische Untersuchung, noch die chemische Analyse und noch weniger die einfache mikroskopische Untersuchung zu dem Zwecke genügen, denn es gibt Futtermittel mit sehr gefährlichem Bakteriengehalt, die weder stinken noch verdorben oder schimmelig sind.

*

*

*

Mit allem Nachdruck muß man daher der Produktion von Futtermitteln mit solcher Mikroflora vorbeugen, und zwar dadurch, daß man sorgfältig bei

der Heubereitung ist und daß man Wasserstauungen auf den Feldern und Wiesen usw. durch Abflüsse und Drainierungen der sumpfigen und morastigen Böden verhindert und dadurch, daß man eine rationelle Zubereitung und Konservierung der industriellen Rückstände ausfindig zu machen sucht.

Hinsichtlich der Sauerfuttermittel (Futterkräuter, Pulpe usw.), deren Anwendung sich immer weiter ausdehnt, ist die von mir vorgeschlagene Methode des Einlegens in Silos anzuraten, welche darauf hinausgeht, die Entwicklung der gefährlichen Mikroflora durch Zufügung von Milchsäurebakterien in Reinkultur und zugleich durch geeignete Beschränkung der Gärungstemperatur zu verhindern, so daß man süße Ensilage oder besser gesagt, *Milch-säure-Sauerfutter* erhält¹⁾.

* * *

Hier möchte ich noch darauf aufmerksam machen, daß außer den Futtermitteln noch andere Bedingungen, die ebenfalls mit der Ernährung zusammenhängen, vorhanden sind, welche schädlich auf die Mikroflora und auf die Konsistenz der Faeces des Rindviehs einzuwirken vermögen.

Z. B. müssen das Tränken mit schmutzigem oder zu kaltem Wasser, der plötzliche Übergang im Frühjahr von der Trockenfütterung zur Grünfütterung und andere Ursachen von Darmstörungen ebenfalls bekämpft werden, wenn wir vermeiden wollen, daß die Abgänge der Milchkühe eine zu verderbliche Quelle der Beschmutzung durch ihren Bakteriengehalt, ihre Weichheit und ihren flüssigen Zustand bilden.

* * *

Aus den vergleichenden Untersuchungen und Beobachtungen über den Bakteriengehalt der Faeces habe ich die Überzeugung gewonnen, daß es darauf ankommt, die zu wenig konsistenten und mit gasbildender und fäulnis-erregender Flora zu reichlich versehenen Abgänge zu beseitigen.

Das, was man gewöhnlich unter Stallhygiene versteht, die Anlage der Ställe, das Reinigen der Kühe, der Räumlichkeit und der Behälter, kommt erst in zweiter Linie in Betracht. Wie könnte man es sonst erklären, daß aus Ställen aus der alten Zeit mit mangelhafter Sauberkeit (gewisse Ställe, auch in der Schweiz, diesem Musterlande, mögen als Beispiele dienen) zuweilen Milch mit einem Mikrobengehalt hervorgeht, der weit eher normal und weniger verderblich ist, als der Mikrobengehalt der Milch, die aus Ställen des neuern Systems, die auch besser gepflegt sind, geliefert wird. Eine richtige Ernährung ist imstande, Faeces zuwege zu bringen, die so wenig beschmutzend sind und eine so wenig schädliche, zuweilen sogar an Käsereibakterien so reiche Mikroflora haben, daß ihr unvermeidliches Eindringen in die Milch sich quantitativ und qualitativ als unerheblich für die gesundheitliche Beschaffenheit der Milch und sogar, innerhalb gewisser Grenzen, als günstig für die Umwandlung der Milch in Butter und Käse erweisen kann.

Es sei noch hervorgehoben, daß, da der Stallmist zur Düngung der Weiden bestimmt ist, die Art seines Bakteriengehaltes nicht ohne Bedeutung für die Mikroflora der Futtermittel sein kann, die von diesen Weiden stammen. Übrigens ist die Mikroflora des Stallmistes auch einer Verbesserung durch die Anwendung von Milchsäurebakterien in Reinkultur fähig, worauf ich noch zurückkommen werde.

¹⁾ S. meine Berichte in den oben erwähnten „Annuari dell' Istituz. Agrar. Ponti.“ 1907 u. folgende. S. auch dieses Centralbl Bd. 42. No. 10/14. Gorini, Verbesserte Bereitung von Sauerfutter (mit Abbildung).

Zusammenfassung.

1. Der schädliche Einfluß, den einige Futtermittel auf die Beschaffenheit der Milch hat, ist wesentlich mikrobi-scher Natur. Dieses Faktum, welches ich schon für das Sauerfutter und die Zuckerrübenpulpelnachgewiesen habe, gilt für die Futtermittel im allgemeinen, da diese eine verderbliche Rückwirkung auf die Mikroflora und die Konsistenz der Faeces ausüben.

2. Da die Hauptquelle der mikrobischen Verunreinigung der Milch von dem Körperschmutze der Kühe herrührt, muß man die Ursachen und den Grad der Beschmutzung einschränken.

3. Eine der am meisten zu befürchtenden Ursachen der Beschmutzung bilden die Faeces, sowohl wegen der Reichhaltigkeit und der Qualität ihrer Mikroflora, als auch wegen der praktischen Schwierigkeit, ihr Eindringen in die Milch während des Melkens zu vermeiden.

4. Die fäkale Beschmutzung ist um so verderblicher, je reichhaltiger die Abgänge an gasbildenden und fäulniserregenden Mikroben sind, und sie läßt sich um so weniger vermeiden, je geringer die Konsistenz der Abgänge selbst ist (diarrhöische Faeces).

5. Da sowohl der Mikrobengehalt als auch die Konsistenz der Faeces von den dem Körper zugeführten Stoffen (den Futtermitteln und dem Wasser) abhängen, muß die erste Sorge, um eine hygienische Produktion der Milch zuwege zu bringen, der Ernährung der Milchkühe zugewandt werden.

6. Man muß daher Futtermittel mit vorwiegend gasbildender und fäulniserregender Mikroflora vermeiden, ebenso wie auch alle andern Ursachen von Darmstörungen durch die dem Körper zugeführten Stoffe (schmutziges Wasser, zu kaltes Wasser, plötzliche Futterveränderungen usw.), welche diarrhöische Faeces hervorrufen können.

7. Namentlich ist denjenigen Futtermitteln nicht zu trauen, welche anormale Mazerationen oder Gärungen erlitten haben, ebensowenig den sog. Ersatzfuttermitteln (Industrierückständen).

8. Um die Nachteile der Futtermittel mit gefährlicher Mikroflora zu neutralisieren oder abzuschwächen, ist eine geeignete Vermischung mit Futtermitteln anzuraten, die eine gutartige Milchsäure-Mikroflora haben.

9. Um den Einfluß der Futtermittel auf die Darmfunktionen und auf die Qualität der Milch beurteilen zu können, muß eine bakteriologische Kontrolle der Futtermitteln eingerichtet werden, da weder die chemische Analyse, noch die einfache mikroskopische Untersuchung genügt.

10. Als Mittel, die geeignet sind, der Produktion von Futtermitteln mit gefährlicher Mikroflora vorzubeugen, sind besonders empfehlenswert:

a) Guter Abfluß des Wassers von nassen Wiesen und Feldern, auf denen Futtermittel angebaut werden;

b) Sorge für gut getrocknetes Heu, welches außerdem eine normale Gärung durchgemacht hat;

c) geeignete Zubereitung und Konservierung der in Silos eingelegten Futtermittel (Futterkräuter, Pulpe usw.) nach der von mir vorgeschlagenen Methode, um süße Ensilage oder Milchsäure-Sauerfutter unter Anwendung von Reinkulturen und der Einschränkung der Gärungstemperatur zu erhalten.

Nachtrag.

Nach der Veröffentlichung dieser meiner Arbeit in den „Rendiconti del R. Istituto Lombardo di Scienze e Lettere“, 26. März 1914, ist in diesem Centralblatt f. Bakteriologie, Abt. II, 41. Bd., 27. Mai 1914, eine sorgfältige Arbeit von A. Wigger, aus dem Laboratorium für landw. Bakteriologie beim Polytechnikum in Zürich (Direktor: Prof. Dügge) über die Mikroflora mehrerer Futtermittel im frischen und gärenden Zustande mit besonderer Berücksichtigung ihres Einflusses auf die Milch erschienen. Diese Arbeit trägt dazu bei, nicht nur meine Untersuchungen zu bestätigen, sondern auch meinen Vorschlag hinsichtlich einer bakteriologischen Kontrolle der Futtermittel in Anbetracht der Unzulänglichkeit der chemischen und einfachen mikroskopischen Kontrolle zu bekräftigen.

Nachdruck verboten.

Hypocreaceen-Studien.

I. Mitteilung.

Von Josef Weese, Wien.

1. Über die Gattungen *Letendraea* Saccardo und *Macbridella* Seaver.

Saccardo¹⁾ hat im Jahre 1880 eine Hypocreaceengattung beschrieben, die er dem Entdecker Abbé Letendre zu Ehren *Letendraea* nannte und von der er folgende Diagnose veröffentlichte: „*Perithecia simplicia, omnino superficialia, globoso-papillata contextu parenchymatico molliusculo, tenui albicante. Asci paraphysati, octospori. Sporidia didyma, fusca.*“

Der Typus der Gattung *Letendraea* ist die auf abgestorbenen Zweigen von *Rubus fruticosus*, *Alnus glutinosa*, *Salix*, *Prunus* und *Ribes rubrum* in Gesellschaft von *Helminthosporium macrocarpum* Grev. und *Coniothyrium eurotioides* in Frankreich (Rouen; leg. Letendre) und England (leg. Vize) gefundene *Letendraea eurotioides* Saccardo.

Von dieser eben genannten Art habe ich leider kein Originalexemplar zur Verfügung gehabt; doch konnte ich ein authentisches Exemplar, das in Plover, Sphaeriaceae, brit. III, No. 10 als *Nectria helminthicola* ausgegeben ist und von Saccardo bei *Letendraea eurotioides* angeführt wird, einer genauen Untersuchung unterziehen. Allerdings war das mir vorgelegene Material recht spärlich und nur mit großer Mühe gelang es, die kleinen Perithezien des Pilzes an Medianschnitten zu studieren. Die Perithezien sind vollständig oberflächlich, stehen meist einzeln

¹⁾ Saccardo, Michelia. II. 1880. p. 73; Sylloge Fungorum. II. p. 538.

oder in kleinen Gruppen, entwickeln kein oder höchstens ein ganz winziges Stroma und treten nicht direkt auf der Rinde, sondern auf dem *Helminthosporium* auf, wie mir meine Schnitte zeigten. Die Angabe, daß unser Pilz in Gesellschaft von *Helminthosporium* auftritt, ist also nicht ganz genau. Die weißen bis schwach ockergelben, glatten, kahlen, weichfleischigen, fast kugeligen oder schwach eiförmigen, mit einer kleinen Papille, die das deutliche Ostiolum trägt, versehenen Gehäuse schwanken in der Breite zwischen 100 und 160 μ . Sie sind daher nicht leicht zu finden. Die Perithezienwandung ist ungefähr 15 μ dick und wird aus mehreren Lagen 4—8 μ großer, polyedrischer, zart- bis mäßig derbwandiger, offener Zellen aufgebaut, die bei zerdrückten Perithezien als fast gradlinig begrenzte Polygone zu beobachten sind. Die Asci sind keulenförmig, oben abgerundet, dickwandig, fast sitzend, achtsporig, 60—70 μ lang, 10—14 μ breit. Die Sporen sind zartwandig, glatt, länglich-spindelförmig, beidendig abgerundet, mit einer Querwand versehen, meist eingeschnürt und ungleichzellig, lichtbraun gefärbt, 12—15 μ lang, $4\frac{1}{2}$ —6 μ breit, einreihig oder zweireihig angeordnet. Paraphysen habe ich nicht ganz deutlich beobachten können, doch dürften solche vorhanden sein.

Von *Letendraea eurotioides* Sacc. ist *Calonectria helminthicola* (Berk. et Br.) Sacc., welcher Pilz von Berkeley und Broome¹⁾ als *Nectria* beschrieben und von Saccardo²⁾ in die Gattung *Calonectria* gestellt wurde, nicht verschieden, wie mir die Untersuchung eines in Rabenhorst, *Fungi europaei exsiccati* als No. 47 ausgegebenen Original Exemplars zeigte. Der Berkeley'sche Pilz stimmt nach seiner Perithezienstruktur und seinen Asci und Sporen vollständig mit meinem Exemplar von *Letendraea eurotioides* und mit der Winterschen Abbildung dieses Pilzes überein. Als *Calonectria* kann man ihn aber nicht bezeichnen, da die Sporen nur zweizellig sind und eine Mehrzelligkeit lediglich nur durch Öltropfen- oder Plasmareste vorgetäuscht wird. *Calonectria helminthicola*, welcher Pilz ebenfalls auf *Helminthosporium* auftritt, gehört also in die Gattung *Letendraea* Sacc. bzw. *Nectria* Fries.

Die Gattung *Letendraea* ist nämlich nichts anderes als eine *Nectria* mit braunen oder braun gewordenen Sporen.

Und derartige *Nectria*-Arten hat man bisher gewöhnlich in die Untergattung *Phaeonectria* gestellt, die von Saccardo³⁾ 1895 begründet wurde und die er im Jahre 1913 zu einer eigenen Gattung erhob⁴⁾.

Letendraea Sacc. und *Phaeonectria* Sacc. sind also synonym. Es wären somit alle *Phaeonectria*-Arten in die ältere Gattung *Letendraea* zu stellen und *Phaeonectria* wäre als eigene Gattung zu streichen.

Nun fragt es sich aber, ob ein zwingendes Bedürfnis nach der Gattung *Letendraea* besteht und ob sie eine nach phylogenetischen Gesichtspunkten einheitliche Gattung darstellt.

Was die erste Frage anbelangt so ist es mir vollständig klar, daß es durchaus nicht notwendig wäre, die braunsporigen *Nectria*-Arten in eine eigene Gattung zusammenzustellen, da alle diese Spezies anfangs hyaline

¹⁾ Berkeley and Broome, *British fungi* no. 896.

²⁾ Saccardo, *Michelia*. I. p. 315.

³⁾ Saccardo, *Sylloge*. XI. 1895. p. 359.

⁴⁾ Saccardo, *l.c.* XXII. 1913. p. 485.

Sporen haben und somit im Jugendzustand vollständig mit den typischen, hyalinsporigen *Nectrien* übereinstimmen.

Natürlich ist das nur eine ganz subjektive Auffassung meinerseits. Manchem würde wieder der Unterschied zwischen braunsporigen und hyalinsporigen *Nectria*-Arten so auffallend erscheinen, so daß er der Sporenfarbe eine große systematische Bedeutung zuschriebe und infolgedessen die Gattung *Letendraea* Sacc. als Zusammenfassung der phaeosporen *Nectria*-Arten als unbedingt notwendig erachten würde. Dann wäre natürlich die Gattung *Letendraea* direkt von der Gattung *Nectria* abzuleiten. Nun stellt aber die Gattung *Nectria* nach den Gesichtspunkten der phylogenetischen Systematik durchaus keine einheitliche Gattung dar. Sie erscheint vielmehr aus entwicklungsgeschichtlich ganz verschiedenen Reihen zusammengesetzt, die infolge eines gemeinsamen Merkmals — der Zweizelligkeit der Sporen nämlich — ganz schematisch zu einer Gattung zusammengefaßt wurden. Da das Braunwerden der Sporen in den verschiedensten Entwicklungsreihen eintritt, so kann natürlich die Gattung *Letendraea* durchaus keine einheitliche Gattung darstellen und muß ebenso wie *Nectria* als polyphyletisch bezeichnet werden. Und eine polyphyletische Gattung hat für die phylogenetische Systematik keinen Sinn. Eine solche Gattung ist derart in kleinere Gattungen zu zerlegen, daß entwicklungsgeschichtlich möglichst einheitliche Gruppen entstehen.

Eine Zerlegung der Gattung *Nectria* nach der bisherigen *Saccardo*schen Sektioneneinteilung würde aber nicht im geringsten den Forderungen der phylogenetischen Systematik entsprechen.

Saccardo teilt nämlich die Gattung *Nectria* in folgende Sektionen:

- I. *Eu-Nectria*: peritheciis typice stromatico-caespitosis, glabrescentibus.
- II. *Dialonectria*: peritheciis subdiscretis, glabrescentibus.
 - a) in caulibus herbaceis fructibus, foliisque,
 - b) in partibus ligneis, corticibus et rhizomatibus,
 - c) in cryptogamis parasiticis,
 - d) in charta, terra, saxis, ossibus.
- III. *Hyponectria*: peritheciis glabris sed subiculo byssino insidentibus;
- IV. *Lepidonectria*: peritheciis squamulosis;
- V. *Lasionectria*: peritheciis pilosellis;
- VI. *Cryphonectria*: peritheciis crustula stromatica subimmersis;
- VII. *Cosmospora*: sporidiis verrucosis rufescentibus;
- VIII. *Phaeonectria*: sporidia flavo-brunnea (simulate striata)

Die Sektionen *Cryphonectria* und *Phaeonectria* wurden später in eigene Gattungen umgewandelt¹⁾.

Die größten Sektionen, die also die meisten Arten umfassen, sind die ersten drei. Und diese Sektionen werden vor allem durch das Vorhandensein oder Fehlen eines Stromas bzw. eines Subikulums charakterisiert. Und gerade diese Merkmale haben bei der Gattung *Nectria* und bei den verwandten Gattungen nicht jene hohe systematische Bedeutung, die ihnen zugedacht

¹⁾ Die später aufgestellte Sektion *Zimmermannia* habe ich nicht in die Tabelle aufgenommen.

wurde. In Übereinstimmung mit v. Höhnel¹⁾ und Theissen²⁾ habe ich wiederholt³⁾ darauf hingewiesen, daß oft auf ein und demselben Rindenstück ein und derselbe Pilz sowohl in dichten Rasen auf einem deutlich entwickelten Stroma als auch einzelnstehend ohne Stromaentwicklung zu finden sei. Nach der Saccardo'schen Einteilung müßte dann der Pilz, trotzdem er sich sonst morphologisch nicht im geringsten unterscheidet, je nachdem ob er botryos oder stromatisch-caespitos auftritt, in ganz verschiedene Sektionen gestellt werden. Daraus geht wohl deutlich genug hervor, daß diese Sektionen unnatürlich sind und in einem phylogenetischen System nicht aufrecht erhalten werden können.

Die Entwicklung des Subikulums wechselt auch außerordentlich; manchmal ist es sehr mächtig entwickelt und manchmal ist es fast gar nicht nachzuweisen.

Während die kahlen *Nectria*-Arten je nach der Entwicklung des Stromas oder Subikulums in verschiedene Sektionen eingeteilt werden, stellt Saccardo die behaarten Formen ohne Rücksicht auf das Stroma in die Sektion *Lasionectria* und beschuppte zu *Lepidonectria*. Als gleichwertige Gruppen kann man aber wohl nicht gut diese Sektionen den ersten drei anreihen. Meiner Meinung nach hätten sie auch nach dem Saccardo'schen Standpunkt höchstens als Untergruppen der ersten drei Sektionen aufgefaßt werden können, denn die beschuppten Formen (wie z. B. *Nectria cinnabarina*, *N. Balansae* usw.) passen sowohl in eine der ersten Sektionen als wie zu *Lepidonectria*. Übrigens wechselt die warzige oder haarige Beschaffenheit der *Nectria*-Perithezien auch außerordentlich, da die Warzen oder die Haare oft abfallen und die Gehäuse dann glatt und kahl erscheinen lassen. Zwischen der warzigen *Nectria subquaternata* Berkeley et Broome⁴⁾ und *N. ochroleuca* [Schweinitz⁵⁾] Berkeley kommen zahlreiche Übergänge vor, deren Zuteilung zu der ersten oder zweiten Art oft ganz dem Empfinden des einzelnen anheimgestellt ist.

Da in den verschiedensten Entwicklungsreihen rauhsporige Arten auftreten, so kann auch die Sektion *Cosmospora* nicht als phylogenetisch einheitliche Gruppe bezeichnet werden. Bezüglich der Gleichwertigkeit dieser Sektion mit den drei großen Sektionen gilt dasselbe, was ich über *Lasionectria* und *Lepidonectria* bemerkte.

Phylogenetisch möglichst einheitliche Gruppen erhalten wir nur dann, wenn wir die *Nectria*-Arten nach dem Bau der Perithezienwandung zusammenstellen. Die Struktur der Gehäusewandung stellt nämlich das konstanteste Merkmal bei den Nectriaceen dar. Alle anderen Merkmale variieren mehr als dieses. Leider wurde bisher die Perithezienstruktur, auf deren Be-

¹⁾ v. Höhnel, Sitzungsber. Kais. Akad. d. Wissensch., Wien, 1909, math. nat. Kl., Bd. 118, Abt. I, p. 298.

²⁾ Theissen, in *Annales Mycologici*, Bd. 9, 1911, p. 45. Die Variabilität des Stromas hat Wollenweber bei Reinkulturen von Vertretern der Gattungen *Gibberella*, *Melanospora*, *Hypocrea*, *Mycosphaerella*, *Nectria* und *Calonectria* ebenfalls konstatieren können (*Phytopathology*). 1913. p. 24—50).

³⁾ Zeitschr. f. d. landwirtsch. Versuchswesen in Österreich, 1911, p. 880; Zeitschr. f. Gärungsphysiol., 1912, I. Bd., p. 127; 1913, III. Bd., 222, 1914, IV. Bd., p. 230; *Mycolog. Centralbl.* 1914, 4. Bd., p. 186.

⁴⁾ Berkeley and Broome, *Journ. Linne. Soc.* Vol. 14. 1873. p. 116.

⁵⁾ Schweinitz, i. *Transact. Americ. Phil. Soc.* II. p. 1832. p. 204 sub *Sphaeria*, sub *Nectria*, Grevillea. IV. 1875. p. 16.

deutung zuerst v. Höhnel¹⁾ hingewiesen hat, sehr wenig beachtet und auch in den Beschreibungen nur sehr selten und flüchtig berücksichtigt. Die große Konfusion in dieser Gruppe war teilweise die Folge davon.

Nach dem feineren Aufbau der Perithezienwandung erhalten wir ziemlich einheitliche Entwicklungsreihen die nicht nur die Gattung *Nectria* zerlegen, sondern auch ziemlich unabhängig voneinander durch die nahverwandten Gattungen wie *Pseudonectria* Seaver²⁾ (= *Nectriella* Sacc.), *Calonectria* de Not., *Ophionectria* usw. hindurchführen und diese ebenfalls zerteilen³⁾. Auch die Gattung *Sphaerostilbe*, die meiner Meinung nicht gut von der Gattung *Nectria* zu trennen ist (ebenso wie *Megalonectria* von *Pleonectria*), wäre in diese Reihen einzubeziehen. Auch *Hypomyces* würde in den entsprechenden Entwicklungsreihen Anschluß finden.

Innerhalb dieser Entwicklungsreihen könnte dann die sporologische Einteilung zur Zusammenfassung verschiedener Entwicklungsstufen benutzt werden. Diese Entwicklungsstufen könnten dann als Gattungen aufgefaßt werden. Der Umfang der Gattungen würde dadurch erheblich kleiner, die Zahl derselben aber bedeutend größer. Die verwandtschaftlichen Beziehungen der einzelnen Genera kämen dann im System viel besser zum Ausdruck. Allerdings das vollständige Bild der phylogenetischen Entwicklung nach dem jeweiligen Stande unseres Wissens wird sich in seiner Kompliziertheit niemals in einem System wiedergeben lassen können, da ja ein System auch dem praktischen Bedürfnis, dem Verlangen nach Übersicht über die reiche Formenfülle, Rechnung tragen muß. Ein System, das rein nur streng phylogenetische Gesichtspunkte gelten läßt und an den Forderungen der praktischen Botanik gleichgültig vorübergeht, würde ja wissenschaftlich sehr wertvoll sein, aber vollständig der Klarheit entbehren.

Theissen⁴⁾ hat die Gattung *Nectria* nach der Beschaffenheit der Sporenmembran in die Sektionen *Leisporae*, *Rhabdotosporae* und *Cosmosporae* geteilt. Die erste der genannten Sektionen umfaßt Arten mit glatten, die zweite solche mit längsgestreiften und die dritte die mit warzigen Sporen.

Innerhalb der nach phylogenetischen Grundsätzen zu begründenden Kleingattungen würde sich die Theissen'sche Einteilung empfehlen;

¹⁾ v. Höhnel, Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wissensch. Wien. 1909. math. nat. Kl. Abt. I. p. 298.

²⁾ Seaver, Mycologia. Vol. 1. 1909. p. 48.

³⁾ Um uns die große Verschiedenheit in der Perithezienwandung der *Nectria*-Arten vor Augen zu führen, brauchen wir uns nur an die typisch pergamentartigen, kleinzelligen Gehäuse von *Nectria mammoidea* Phil. et Plowr. und deren Verwandtenkreis (siehe Weese, Studien über *Nectriaceen*, I. Mittlg. 1) und an die weichen, zartgroßzelligen der *Nectria Peziza* und deren Verwandte zu erinnern. Welche unüberbrückliche Kluft liegt zwischen diesen beiden Gruppen! Ein gegenseitiges Ableiten ist unmöglich. Dasselbe gilt wieder von den kleinzelligen Perithezien der *N. urceolus* und den großzelligen, zweischichtigen Gehäusen der *N. flammeola* Weese. Die aufgezählten Arten gehören alle verschiedenen Entwicklungsreihen an, innerhalb welcher aber nahe Beziehungen zu Vertretern anderer *Nectriaceen*-Gattungen zu konstatieren sind. Wenn die Perithezien gleichen Bau haben, so ist die Ableitung einer *Nectria* von einer *Pseudonectria* oder die einer *Calonectria* von *Nectria* sehr leicht durchzuführen; zeigen aber die Gehäuse total verschiedenen Bau, so ist eine Ableitung eine Unmöglichkeit. Bei einer *Pseudonectria* braucht ja nur eine Wandung innerhalb der Sporen entstehen und wir haben eine *Nectria* vor uns; treten aber zwei Septen auf, so erhalten wir schon eine *Calonectria*.

⁴⁾ Theissen, Die Hypocreaceen von Rio Grande do Sul, Südbrasilien. (Ann. Mycol. Vol. 9. 1911. p. 44.)

doch die Gattung *Nectria* in ihrem heutigen Umfang würde dadurch nicht in einheitliche Gruppen zerlegt werden. Das Theissen'sche System das gegenüber dem Saccardo'schen sicher einen Fortschritt bedeutet, bringt uns unstreitig eine klare Übersicht, entspricht aber meiner Ansicht nach nicht der Entwicklungsgeschichte und erleichtert das Wiedererkennen der Formen nicht sehr.

Wollenweber¹⁾, der in einer interessanten Arbeit die Kultur als die Grundlage und nicht bloß als ein Hilfsmittel für die Askomyzeten-systematik angesehen haben will, teilt die Gattung *Nectria* nach den Konidien in die Sektionen *Tuberculariastrum* und *Willkommioetes*. Erstgenannte Sektion hat eiförmige oder ellipsoidische Konidien (*Tubercularia* Tode entsprechend) und die zweite subzylindrische Konidien mit apedicellater Basis (*Cylindrocarpon* Wollenw. nov. gen. entsprechend).

Durch dieses System werden die morphologischen Eigenschaften der Hauptfruchtform zugunsten derer der Nebenfruchtform ganz in den Hintergrund gedrängt und Formen, die sicher verschiedenen Zeugungskreisen angehören, wie z. B. die *Nectria Peziza* und die *N. cinnabarina* erscheinen in derselben Sektion (*Tuberculariastrum*), während die der *N. cinnabarina* morphologisch näherstehende *N. discophora*²⁾ in einer anderen Sektion (*Willkommioetes*) zu finden ist. So sehr ich den Wert der Züchtungsergebnisse schätze und die Bedeutung der Nebenfruchtformen zur Beurteilung der näheren oder weiteren Verwandtschaft von *Nectrien*, die nach den Perithezien gleich gebaut sind, anerkenne, so kann ich mich doch mit einem so einseitigen System, das die Konidien zur Grundlage hat und die Morphologie der Hauptfruchtform außer acht läßt, nicht einverstanden erklären. Schon aus praktischen Gründen muß ich mich gegen eine derartige Einteilung aussprechen, da man ja bei Bestimmungen wohl selten in der Lage ist, langwierige Kulturversuche durchzuführen, um dann auf Grund der Nebenfruchtform eine Zuweisung der Art in eine der beiden Sektionen oder gar, wenn Chlamydosporen auftreten, in die Gattung *Hypomyces* vornehmen zu können.

Vorderhand kennen wir von sehr vielen Arten noch nicht einmal die Morphologie der Hauptfruchtform, von einer Kenntnis der Nebenfruchtform ist schon gar nicht zu reden. Und solange noch über einen Großteil der *Nectria*-Arten tiefe Dunkelheit liegt, wäre es ein vergebliches Bemühen, ein neues System in deutlichen Zügen aufbauen zu wollen³⁾. Deshalb halten wir aus Gründen der Notwendigkeit, trotz der klaren Erkenntnis, nach den strengen Grundsätzen wissenschaftlicher Systematik einen Fehler zu begehen, an der alten Gattungsumgrenzung der Gattung *Nectria* bzw. der anderen *Nectriaceen*-Genera vorderhand noch fest.

Solange aber noch die Gattung *Nectria* in ihrem heutigen Umfang besteht, können wir ebenfalls auch die Gattung *Letendraea* als Zu-

¹⁾ Wollenweber, *Ramularia*, *Mycosphaerella*, *Nectria*, *Calonectria* (Phytopathology. 1913. p. 197—242, 3 pl.)

²⁾ Näheres über diesen Pilz in Weese, Studien über *Nectriaceen*. II. Mittlg. No. 12. (Zeitschr. f. Gärungsphysiol. 1914 Bd. 4. p. 114—121.)

³⁾ Des provisorischen Charakters eines derartigen neuen, rein morphologischen Systems, das ja, um die Übersicht zu erhöhen, mehr oder weniger nur ein Merkmal in den Vordergrund stellt, während die verwandtschaftlichen Beziehungen nach Merkmalskomplexen zu beurteilen wären, müßte man sich trotzdem noch immer bewußt sein.

sammenfassung aller *Nectria*-Arten mit braunen Sporen aufrechterhalten und alle *Phaeonectrien* in diese Gattung stellen.

Fred J. Seaver¹⁾ stellt auch die stromalosen, braunsporigen *Nectria*-Arten (also zu den *Nectrien* im Sinne Seavers gehörend, worunter er die stromalosen *Nectriaceen* versteht) in die Gattung *Letendraea*, während er die stromatischen, braunsporigen *Nectriaspezies*, die er zu den *Creonectrien* stellt, in der neuen Gattung *Macbridella* Seaver²⁾ zusammenfaßt. Da ich aber den Gegensatz zwischen *Nectrien* und *Creonectrien* auf Grund meiner schon eingangs erwähnten Erfahrung bezüglich des systematischen Wertes der Stromaentwicklung nicht anerkenne, so lasse ich auch die Gattung *Macbridella* Seaver nicht gelten.

Macbridella Seaver ist daher als eigene Gattung vollständig zu streichen.

2. *Malmeomyces pulchella* Starbäck (1899).

Starbäck³⁾ hat unter diesem Namen einen Pilz beschrieben, der von Malme auf jungen Bambuszweigen in Südbrasilien gesammelt wurde. Über die systematische Stellung dieses Pilzes, der eine neue Gattung repräsentierte, konnte Starbäck keine Klarheit erlangen und er stellte ihn daher provisorisch zu den *Hypocreaceen*.

Da v. Höhnel⁴⁾ und Theissen⁵⁾ über diese neue Gattung verschiedene Vermutungen äußerten und ich unter *Malmeomyces* eine *Nectriacee* witterte, so untersuchte ich einen Teil des spärlichen Originalmaterials aus dem Stockholmer Reichsmuseum und stellte fest, daß es sich um eine *Calonectria* handelt, die durch die blaugrauen Borsten auf der Perithezien-Oberfläche sehr charakteristisch erscheint und die *Calonectria pulchella* (Starb.) Weese genannt werden muß. Näheres über diesen Pilz findet sich in einer eigenen Arbeit⁶⁾.

Nach der Veröffentlichung meiner Untersuchungen über *Malmeomyces* erfuhr ich durch eine Arbeit von Rehm⁷⁾, daß *Malmeomyces pulchellus* Starb. von Baker auf *Bambusa* auf den Philippinen (Luzon, Prov. Laguna, Los Baños) gefunden wurde. Diese Aufsammlung war natürlich von höchstem Interesse für mich, da ja bei reicherem Material eine Aufklärung in mancher noch nicht ganz gelösten Frage zu erhoffen war. Das Originalmaterial war ja nur überaus spärlich vorhanden und mußte selbstverständlich auch außerordentlich geschont werden.

Ich wandte mich daher an Herrn Dr. Rehm mit der Bitte um Überlassung seines Materials für meine Studienzwecke, welcher Bitte er in bekannt

¹⁾ Seaver, Mycologia. I. 1919. p. 74.

²⁾ Seaver, l. c. p. 195.

³⁾ Starbäck, Karl, Askomyceten der ersten Regnellischen Expedition. I. (Bihang till Kongl. Svenska Vetensk. Akad. Handl. Bd. 25. 1899. afd. 3. No. 1. p. 32—33, Taf. II. Fig. 57—59); Saccardo, Sylloge fungorum. XVI. p. 592.

⁴⁾ v. Höhnel, Fragmente zur Mykologie. VIII. Mittlg. No. 307, Fig. 1 (Sitzungsber. Kais. Akad. d. Wissensch. Wien. 1909. math.-naturw. Kl. Abt. I.) u. Fragmente z. Myk., XII. Mittlg. 1910. No. 611.

⁵⁾ Theissen, Ann. Mycol. Vol. 11. 1913. p. 493—496. Theissen stellt *Malmeomyces* zu *Chaetothyrium*.

⁶⁾ Weese, Über die Gattung *Malmeomyces* Starb. (Zeitschr. f. Gärungsphysiol. Bd. 4. 1914. p. 224—235. 2 Fig.)

⁷⁾ Rehm, Askomycetes Philippinenses. II. (The Philippine Journ. of Science. Vol. 8. 1913. p. 255.) Rehm weist auch darauf hin, daß *Malmeomyces pulchella* der Gattung *Calonectria* nahesteht, doch auf Grund seines Materials konnte man eigentlich nicht zu diesem Schluß kommen.

liebenswürdiger und bereitwilligster Weise nachkam. Leider verfügte er selbst nur über ganz spärliches Material und meine Hoffnungen gingen somit nicht in Erfüllung.

Die mikroskopische Untersuchung des von B a k e r gesammelten Pilzes zeigte mir dann, daß es sich aber keineswegs um die echte *M a l m e o m y c e s p u l c h e l l a* Starb. hier handelt, sondern um eine schwarzbraun beborstete Sphaeriacee, die sich nicht mehr ganz sicher bestimmen läßt, da das Material zu spärlich und schlecht ist. Möglicherweise ist es eine *Z i g n o ë l l a*.

Da R e h m nur nach der S t a r b ä c k schen Beschreibung, die einem ja kein vollständiges Bild des Pilzes gibt, urteilen konnte, so ist seine Bestimmung sehr verständlich. Nach der S t a r b ä c k schen Beschreibung konnte man ja wirklich den B a k e r schen Pilz für *M a l m e o m y c e s p u l c h e l l a* halten, da auch die von genanntem Autor beschriebenen und abgebildeten Setae zwischen den Perithezien zu finden waren. Dann sagt ja auch S t a r b ä c k, daß sein Pilz nach dem Perithezienbau besser zu den Sphaeriaceen zu stellen wäre, welche Angabe, die nach meiner Untersuchung nicht richtig ist, natürlich auch irreführend wirken mußte.

Calonectria pulchella (Starb.) Weese ist also bis jetzt, soviel aus der Literatur ersichtlich ist, nur einmal gefunden worden.

3. *Hypocreopsis ? moriformis* Starbäck (1899).

Von diesem Pilz habe ich ein Originalexemplar aus dem Herbarium H. S y d o w (Schöneberg-Berlin) untersuchen können. Auf Grund dieser Untersuchung kann ich die Angabe v. H ö h n e l s, daß *Hypocreopsis moriformis* Starb.¹⁾ von *Nectria paraguayensis* Spegazzini²⁾ nicht verschieden sei, vollständig bestätigen. Von letztgenanntem Pilz habe ich Originalexemplare, die in B a l a n s a, Plantes du Paraguay No. 2757 und No. 3956 ausgegeben sind, aus dem Herbarium S a c c a r d o studieren können.

Hypocreopsis ? moriformis in Rick, *Fungi austro-americi*. 196 ist nach meinem Vergleich mit dem Original vollständig richtig bestimmt.

v. H ö h n e l³⁾ stellt vorläufig *Hypocreopsis moriformis* in die Gattung *Endothia* Fries und nennt den Pilz infolge seiner Identität mit *Nectria paraguayensis* Speg. *Endothia paraguayensis* (Speg.) v. Höhnel.

Nach v. H ö h n e l ist *Hypocreopsis* Karst nichts anderes als eine *Hypocrea* mit *Nectria*-Sporen. *Clintoniella* (Sacc.) soll dasselbe sein.

Da *Nectria paraguayensis* ursprünglich eingewachsene Stromata besitzt, so kann dieser Pilz nach v. H ö h n e l nicht als *Hypocreopsis* aufgefaßt werden. Trotzdem *Endothia* Fries tief ins Stroma eingesenkte Perithezien besitzt, die daher geschnabelt erscheinen, so glaubt doch v. H ö h n e l auf Grund des Baues der Perithezien, daß für *N. paraguayensis* die Zuteilung zu *Endothia* die richtigste sei. T h e i s s e n⁴⁾ stellt *Hypocreopsis moriformis* in die

¹⁾ S t a r b ä c k in Bihang svenska Vetensk. Akad. Handling. Bd. 25 1899. 3. Afd. No. 1. p. 35.

²⁾ S p e g a z z i n i, *Fungi Guar.* Pug. I. u. 238. (1883.)

³⁾ v. H ö h n e l, *Fragm. z. Mykologie*. XIV. (Sitzungsber. Kais. Akad. d. Wissensch. Wien. 1912. Meth. naturw. kl. Abt. 1. p. 378—380.

⁴⁾ T h e i s s e n, *Annales Mycologici* 1911. p. 52.

Gattung *Nectria* und sieht keinen Grund dafür, den Pilz nach v. Höhnels Vorgang zu *Endothia* zu ziehen, da er eine typische *Eunectria* mit kreisförmig determiniertem Stromapolster vorstellt. Theissen nennt daher den angeführten Pilz *Nectria moriformis* (Starb.) Theissen.

Von einer ganz typischen *Nectria* in der derzeitigen Umgrenzung der Gattung kann man in diesem Fall wohl nicht sprechen und die vorläufige Stellung bei *Endothia*, welche Gattung ich wie v. Höhnel als Hypocreacee betrachte, erscheint mir ganz passend, wenn ich auch nicht verkenne, daß der Pilz manchmal wirklich einer *Nectria* sehr ähnlich sieht und jedenfalls der Gattung *Nectria* äußerst nahe steht.

4. *Trichonectria aculeata* W. Kirschstein (1906).

Wilhelm Kirschstein¹⁾ hat auf der Rinde einer abgestorbenen noch stehenden Rottanne im Rathenower Stadtforst (Brandenburg) im November 1905 einen Pilz gefunden, auf Grund dessen er die neue Gattung *Trichonectria* aufstellte und den er als *Trichonectria aculeata* W. Kirschst. im Jahre 1906 beschrieb.

Nach der Beschreibung zeigt die Gattung *Trichonectria* oberflächliche, einzeln oder zu mehreren dicht beisammen auftretende, zarthäutige, fast farblose, mit weißen, stachelähnlichen Borsten besetzte Perithezien, die einen prosenchymatischen Bau aufweisen sollen. Die Schläuche sind eiförmig und achtsporig; die Sporen spindelförmig, hyalin und mehrzellig. Pseudoparaphysen, aus farblosen, großen, kugeligen Zellen zusammengesetzt, sollen vorhanden sein.

Nach Kirschstein unterscheidet sich die Gattung *Trichonectria* von den nahestehenden Gattungen *Calonectria* de Not. und *Ophionectria* Sacc. hauptsächlich durch das zarte, mit stacheligen Borsten besetzte prosenchymatische Gehäuse.

Aus dieser Angabe und aus der Beschreibung von *Trichonectria aculeata* geht ganz deutlich hervor, daß es sich hier um eine beborstete, stromalose *Calonectria* handelt. Da es eine größere Anzahl behaarter *Calonectria*-Arten gibt und es nicht angeht, die behaarten Arten von den unbehaarten zu trennen, so kann meiner Meinung nach die Gattung *Trichonectria* nicht aufrecht erhalten werden. Der Pilz hat daher *Calonectria aculeata* (Kirschst.) Weese zu heißen. Originalmaterial ist davon leider nicht mehr vorhanden, wie mir der Autor brieflich mitteilte.

Die Gattung *Trichonectria* fällt auch mit der Gattung *Puttemansia* P. Henn.²⁾ zusammen, die nichts anderes als eine stromatische *Calonectria* (also *Scoleconectria* Seaver) darstellt, die mit Borsten versehen ist. Ich halte natürlich auch die Gattung *Puttemansia* nicht aufrecht, da sie vollständig in den bisherigen Umfang der Gattung *Calonectria* paßt³⁾.

Eine mir von Rehm übersandte *Trichonectria bambusicola* Rehm nov. spec. (leg. Baker; Philippinen) paßt auch sehr gut in die Gattung *Calonectria* und gehört in den sehr charakteristischen Verwandtenkreis der *Calonectria Balansea* Berlese et Roumeguère,

¹⁾ Kirschstein, Verhandlungen d. Bot. Ver. d. Prov. Brandenburg. 1906. p. 60.

²⁾ P. Hennings, Hedwigia. 1902. p. 115.

³⁾ Weese in Zeitschr. f. Gärungsphys. Bd. 4. 1914. p. 232.

C. ambigua Speg., *C. melioloides* Speg., *C. appendiculata* Rehm, *C. pachythrix* Rehm usw. Näheres über diese Formen ist in einer meiner früheren Arbeiten¹⁾ zu finden.

5. *Pleonectria pinicola* W. Kirschstein (1906).

Nach dem Originalexemplar aus dem Herbarium Kirschstein (Berlin) zeigt dieser Pilz, der von dem Autor²⁾ auf faulenden Zweigen von *Pinus silvestris* im Rathenower Stadtforst (Brandenburg) im Dezember 1904 gesammelt wurde, oberflächliche, anfangs fast kugelige, später deutlich genabelte oder schüsselförmig oder unregelmäßig zusammengesunkene, 300—370 μ breite, dunkelrote oder rotbraune, häufig mit gelbgrünen Körperchen an der ganzen Oberfläche besetzte, meistens etwas rauhe, warzige oder kleiige mit kleiner, nur bei den roten Exemplaren deutlicher sichtbarer Papille versehene, fest fleischige Perithezien, die in dichtgedrängten Rasen auf einem rundlichen, 1—2½ mm großen, warzenförmigen, bis 450 μ hohen, aus der Rinde hervorbrechenden, rotbraunen Stroma auftreten, das im untersten, noch in der Rinde eingesenkten Teile aus derbwandigen, kugeligen oder polyedrischen, ca. 5 μ großen Zellen gebildet wird, während es gegen den Scheitel aus größeren, anfangs noch isodiametrischen, gegen oben aber mehr langgestreckten, in parallelen, senkrecht gegen die Oberfläche gerichteten Reihen angeordneten Zellen, die in ihrer Hauptausdehnung zwischen 10 und 24 μ schwanken, aufgebaut erscheint. Durch Einwirkung von Kalilauge wird die rotbraune Färbung der Gehäuse in blauviolett verwandelt. Die die Basis des Stromas aufbauenden Zellen scheinen manchmal Öltropfen zu enthalten. Das zart radialfaserige Ostium der manchmal etwas gestielten Perithezien ist meist nicht sehr deutlich zu beobachten. Die Perithezienwandung ist seitlich ungefähr 44 μ breit und wird außen aus dickwandigen, kugeligen oder ellipsoidischen, 10—16 μ großen, deutlichen Zellen gebildet, die gegen innen etwas kleiner, flacher und lichter gefärbt werden. An der Peripherie liegen sehr häufig auf der äußersten, manchmal mehr flachen Zellschicht strukturelose, grüne Körperchen. Gegen die Basis werden die die Gehäusewandung aufbauenden Zellen größer und gehen ohne deutliche Grenze in die des Stromas über, so daß die Perithezien wie etwas in das Stroma eingesenkt erscheinen. Bei zerdrückten Perithezien sind die Zellen nicht deutlich zu beobachten, was teilweise damit zusammenhängt, daß diese mit den grünen Körperchen bedeckt sind. Der Mündungskanal ist mit deutlichen steifen Periphysen ausgestattet. Asci zahlreich, zartwandig, ganz kurz gestielt, zylindrisch oder zylindrisch-keulenförmig, oben abgerundet und selten etwas verdickt, viersporig, meist aber ganz mit Sporidien, die durch Keimung der Sporen in den Schläuchen entstehen, erfüllt, 80—110 μ lang, 6—11 μ breit. Sporen hyalin, glatt, zartwandig, verschiedengestaltig, länglich elliptisch, spindelförmig, fast spitz beiderseits zulaufend, keulenförmig, länglich zylindrisch und beidendig abgerundet, gerade oder gekrümmt, mit 6 bis 9 deutlichen, geraden oder gekrümmten, senkrecht zur Achse oder auch schief gerichteten Querwänden versehen, die dieselben in meist ungleiche Zellen zerlegen. Die Sporen, aus denen zahlreiche kleine, gerade oder gekrümmte, zylindrische, beidendig abgerundete, 2½ μ lange, ¾ μ breite Sporidien hervorsprossen, waren 17—30 μ lang, 4—5½ μ breit und sind gewöhnlich gerade oder schwach

¹⁾ Weese, Mykol. Centralbl. 1914. p. 183—185.

²⁾ W. Kirschstein, Neue märkische Ascomyceten. (Abhandl. des Bot. Ver. d. Prov. Brandenburg. Bd. 48. 1906. p. 59.)

schief einreihig im Ascus angeordnet. Paraphysen zahlreiche, die Schläuche überragend, fädig, geschlängelt, mit kleinen Öltropfen versehen, $2-2\frac{1}{2}\mu$ breit.

Da Kirschstein in den mittleren Zellen der Sporen zwischen den Querwänden auch Längswände beobachten konnte, so stellte er diesen Pilz in die Gattung *Pleonectria* Saccardo¹⁾. Doch trotz der größten Mühe gelang es mir nicht, mauerförmige Sporen festzustellen. Die von Kirschstein beobachteten Längswände sind lediglich durch Sporidien, die den Sporen aufsaßen, vorgetäuscht worden. Der Pilz hat also nur gewöhnliche mehrzellige und keine mauerförmigen Sporen und gehört somit in die Gattung *Calonectria* de Notaris²⁾ oder allenfalls noch in die Gattung *Ophionectria* Saccardo³⁾, welche beiden Gattungen ja ohne deutliche Grenze ineinander übergehen.

In der Gattung *Ophionectria* ist aber eine Art bekannt, die ebenfalls auf *Pinus* in rundlichen Rasen auftritt und deren Asci ganz mit Sporidien erfüllt sind. Es ist die *Ophionectria scolecospora* Brefeld und Tavel⁴⁾. Vergleicht man diesen Pilz, der in Rehm, Ascomyceten No. 1921 (auf Ästen von *Pinus sylvestris* bei Triglitz in der Prignitz, (Provinz Brandenburg, 1910, leg. Otto Jaap) und in Jaap, Fungi selecti exsiccati No. 54 richtig bestimmt ausgegeben ist, mit *Pleonectria pinicola* Kirschstein, so sieht man, daß diese beiden Pilze voneinander nicht verschieden sind. *Ophionectria scolecospora* zeigt zwar meist braunrote oder dunkelrote Perithezien ohne die gelben Körperchen, doch an einzelnen Exemplaren ist auch der gelbgrüne Überzug ganz deutlich zu beobachten, wenn er auch nicht so stark entwickelt ist wie bei dem Kirschsteinschen Pilz. Der feinere Aufbau der Gehäuse ist bei beiden Pilzen gleich, wenn auch bei zerdrückten Perithezien von *Ophionectria scolecospora* Bref. et Tavel der parenchymatische Aufbau infolge der meist fehlenden grünen Körperchen deutlicher zu beobachten ist. Auch in der Form und der Größe der Asci und der Paraphysen zeigt sich kein Unterschied. Eine deutliche Differenz liegt aber in den Sporen. Brefeld und Tavel beschreiben die Sporen ihres Pilzes als lang zylindrisch, beidendig abgerundet, hyalin, durch eine unbestimmte Anzahl Querwände vielzellig und wurmförmig, $44-78\mu$ lang, $2\frac{1}{2}-4\mu$ breit und in der Zweizahl im Ascus auftretend, während die in der Vierzahl im Ascus zu findenden Sporen von *Pleonectria pinicola* W. Kirschst. nur eine Länge von 30μ , dafür aber eine etwas größere Breite erreichen und nicht immer eine länglich-zylindrische, wurmförmige Gestalt aufweisen.

Auf den ersten Blick muß einem natürlich diese Differenz erheblich und auffallend erscheinen. Untersucht man aber eine größere Anzahl Perithezien der *Ophionectria scolecospora* Bref. et Tav. so sieht man, daß auch kürzere Sporen zu finden sind, die dann in der Vierzahl im Ascus aufzutreten scheinen. Ellis und Everhart⁵⁾ erwähnen auch bei *Chilo-*

¹⁾ Saccardo i. Nuov. Giorn. Bot. It. Vol. 8. 1876. p. 178.

²⁾ de Notaris, Recl. Piron. in Comm. Critt. Ital. Bd. III. 1867. p. 477. Saccardo, Sylloge Fungorum. Bd. II.

³⁾ Saccardo i. Michelia. I., 1878. p. 323.

⁴⁾ Brefeld u. Tavel, Askomyceten. II. (Untersuch. a. d. Gesamtgeb. d. Mykolog. H. 10. 1891. p. 179. Tab. V. Fig. 45.)

⁵⁾ Ellis a. Everhart, North American Pyrenomycetes. 1892. p. 116. Plate 12, Fig. 9-12. Die Abbildung einer Einzelspore, die in Sporidien zerfällt, ist nicht richtig, da ja die Sporidien nicht durch Zerfall des Zellinhalts, sondern durch Sprossung entstehen.

nectria cucurbitula (Curr.) Sacc.¹⁾, worunter sie, wie ich an Ellis und Everharts *Fungi Columbiani continued*, C. L. Shear, No. 1433 feststellen konnte, *Ophionectria scolecospora* verstehen, daß die Schläuche 2—4 Sporen enthalten, die in der Länge von 15 μ bis fast zur Höhe der Asci variieren. Wir finden also auch bei *Ophionectria scolecospora* kürzere Sporen und es erscheint für mich sicher, daß *Pleonectria pinicola* W. Kirschstein nur eine grün bestäubte, viersporige Varietät des erstgenannten Pilzes darstellt. Da die Sporen nicht fadenförmig sind, so wäre allerdings diese Varietät *tetraspora* n. v. besser zu *Calonectria* als wie zu *Ophionectria* zu stellen. Sind nur zwei Sporen entwickelt, so sind sie lang und wir haben eine *Ophionectria* vor uns, treten die Sporen in der Vierzahl im Ascus auf, so sind sie kürzer und wir müssen von einer *Calonectria* sprechen. Daraus geht deutlich hervor, daß sich eine nur halbwegs scharfe Grenze zwischen den Gattungen *Calonectria* und *Ophionectria* nicht ziehen läßt und es sehr oft Geschmackssache ist, den Pilz in die eine oder die andere Gattung zu stellen.

Nach der Beschreibung ist es außer Zweifel, daß *Nectria cylindrospora* Sollmann²⁾, welchen Pilz Berlese und Vogl³⁾ zu *Ophionectria* stellten, mit *Ophionectria scolecospora* zusammenfällt, welche Idee auch Rehm⁴⁾ und Seaver⁵⁾ vertreten. Sollmanns Diagnose stimmt nämlich so ausgezeichnet zu letztgenanntem Pilz, dann treten beide Pilze auf dem gleichen Substrat auf, so daß auch ohne Kenntnis des wahrscheinlich nicht erhältlichen Originals von *Ophionectria cylindrospora* (Sollm.) Berl. et Vogl ausgesagt werden kann, daß *Ophionectria scolecospora* nur ein Synonym des schon früher (1864) aufgestellten Sollmannschen Pilzes darstellt. Sollmann gibt zwar an, daß sein Pilz achtsporig ist, doch kann diese Angabe auch ein Versehen sein, wenn auch seine Sporen etwas schmaler sind als beim Brefeldschen Pilz.

Mit *Ophionectria cylindrospora* (Sollm.) Berl. et. Vogl fällt auch die *Nectria Rosellini* Carestio⁶⁾ zusammen, wie ich an einem Original Exemplar des letztgenannten Pilzes konstatieren konnte. Auch Rehm zieht diese *Nectria* zu *Ophionectria cylindrospora*. Saccardo⁷⁾ hat *Nectria Rosellini* Carest. in seine Gattung *Chilonectria* gestellt, in der er die vielsporigen Nektrien zusammenfaßt. Vielsporig ist aber der Pilz eigentlich nicht, denn nur die durch Sprossung aus den Sporen hervorgegangenen Sporidien treten in so großer Anzahl auf, nicht die Sporen selbst. In einzelnen Asci konnte ich deutlich die vielzelligen, wurmförmigen Sporen beobachten, meistens waren aber die Sporen noch nicht entwickelt.

¹⁾ Curreio, *Compt. Sphaeriac. tab. 49, Fig. 178, sub Sphaeria; sub Chilonectria* Saccardo, *Michelia. I. p. 270*. Was Ellis u. Everhart unter *Chilonectria cucurbitula* verstehen, ist aber nicht der von Saccardo gemeinte Pilz.

²⁾ Sollmann, *Beiträge zur Anatomie und Physiologie der Sphaeriaceen. (Botan. Zeitung. 1864. p. 265.)*

³⁾ Berlese und Vogl, *Addit. Syll. p. 217; Saccardo, Sylloge fungorum. IX. p. 995.*

⁴⁾ Rehm, *i. Annales Mycologici. 1911. p. 5.*

⁵⁾ Seaver, *i. Mycologia. 1909. p. 198.*

⁶⁾ Hedwigia, Bd. 5. 1866. p. 190. *Exsikkat: Rabenhorst, Fungi europaei exsiccati, No. 923. auf Abies pectinata.*

⁷⁾ Saccardo in *Michelia, I., pag. 270 u. Sylloge Fungorum II. p. 453.*

Fred J. Seaver¹⁾ vermutet, daß *Chilonectria* Rosellini (Carest.) Saccardo mit *Calonectria balsamea* (Cooke et Peck) Saccardo²⁾ identisch sei. Der erstgenannte Pilz hat zwar längere Sporen als der zweite, doch ist es sehr leicht möglich, daß hier dasselbe Verhältnis vorliegt wie zwischen *Pleonectria pinicola* und *Ophionectria scolecospora* und daß somit *Calonectria balsamea* mit *Pleonectria pinicola* zusammenfällt und daher auch nur eine Form von *Ophionectria cylindrospora* (Syn: *Ophionectria scolecospora*) darstellt. Nach Seavers Beschreibung von *Calonectria balsamea* erscheint es mir sogar als sehr wahrscheinlich, daß dieser Pilz von *Pleonectria pinicola* kaum spezifisch verschieden sein dürfte.

Seaver hat *Ophionectria scolecospora* Bref. et Tav., da dieser Pilz ein Stroma entwickelt hat, in seine Gattung *Scoleconectria*³⁾ eingereiht und ihn als Typus dieser Gattung bezeichnet. *Scoleconectria* umfaßt nach Seavers Umgrenzung die Ophionectrien mit Stroma. Charakteristisch für diese Gattung sind also das Vorhandensein des Stromas und die wurmförmigen Sporen. Allerdings stellt er auch Pilze in die Gattung, die ellipsoidische Sporen zeigen.

Aber gerade der Typus der Gattung *Scoleconectria*, die *Scoleconectria scolecospora* (Bref. et Tav.) Seaver liefert einen schönen Beweis für die Unhaltbarkeit dieser Gattung, die nur stromatische Formen umfaßt, während die astromatischen Formen in den Gattungen *Calonectria* und *Ophionectria* vereinigt werden. Wenn nämlich die Perithezien von *Scoleconectria scolecospora* (Bref. et Tav.) Seav. einzeln auf Nadeln von *Pinus silvestris* L. auftreten, so entwickeln sie kein Stroma⁴⁾ und wären somit von der Creonectrien-Gattung *Scoleconectria* Seaver weg in die Nectrien-Gattung *Ophionectria* Sacc. sens. Seaver zu stellen. Daraus geht deutlich genug hervor, daß eine Scheidung der Nectriaceen in stromalose Nectrien und stromatische Formen (Creonectrien) ganz unnatürlich und eine Zweiteilung der bisherigen Gattungen *Calonectria* und *Ophionectria* ungerechtfertigt ist. Die von Seaver in seiner Überschätzung des systematischen Wertes des Vorhandenseins oder Fehlens eines Stromas aufgestellte Gattung *Scoleconectria* kann ich daher nicht anerkennen.

Wenn Seaver *Chilonectria Cucurbitula* als Synonym zu *Scoleconectria scolecospora* (Bref. et Tav.) Seaver stellt, so meint er damit den Pilz, den Ellis und Everhart darunter verstehen und nicht den Pilz, den Saccardo im Auge hat. Der Saccardosche Pilz scheint von *Ophionectria scolecospora* deutlich verschieden zu sein, tritt auch nicht auf Nadelholzrinde auf, sondern auf Laubholzrinde und dürfte meiner Vermutung nach nichts anderes als *Nectria Coryli*

¹⁾ Seaver, Mycologia, Bd. 1. 1909. p. 201.

²⁾ Cooke a. Peck in Ann. Rep. W. Y. State Mus., wg. 26. 1874. p. 84; Grevillea, Bd. 12. 1884. p. 81 sub *Nectria*; sub *Calonectria* in Saccardo, Syll. Fung.; Bd. 9. p. 986. *Calonectria balsamea* wurde auf Zweigen von *Abies balsamea* gefunden.

³⁾ Seaver, l. c., p. 197, 198. Seavers Pilz hat kleinere Asci (60—75 μ lang, 8—10 μ breit) als die europäischen Exemplare. Ein von mir untersuchtes amerikanisches Exemplar stimmt mit Seavers Schlauchmassen ziemlich überein.

⁴⁾ Diese Beobachtung konnte ich an einem in Jaap, Fungi selecti exsiccati No. 54 ausgegebenen Exemplar machen.

Fuckel sein, bei welchem Pilz die zweizelligen Sporen auch zu Sporidien auskeimen, die dann den ganzen Ascus erfüllen.

Chilonectria cucurbitula (Curr.) Sacc. in Roumèguère, *Fungi selecti exsiccati*, No. 7110 ist auch tatsächlich nichts anderes als *Nectria Coryli* Fuckel¹⁾.

Von der echten *Nectria Cucurbitula* (Tode) Fries²⁾, die auf Nadelholzrinde auftritt und als Wundparasit die Ursache des teilweisen oder gänzlichen Absterbens von Fichten, manchmal auch von Tannen und Kiefern nach Hartig³⁾ darstellen soll, ist die *Chilonectria Cucurbitula* ganz verschieden. Winter behauptet zwar, daß bei *Nectria cucurbitula* (Tode) Fries ebensolche spermatienartige Körperchen in den Schläuchen vorkommen sollen, jedoch kann ich diese Beobachtung nicht bestätigen.

Nach meinen Untersuchungen von authentischen Exemplaren zeigt *Nectria cucurbitula* (Tode) Fries oberflächliche, anfangs ziegelrote, dann scharlachrote bis blutrote, später manchmal bräunlich und schließlich schwärzlich werdende, kugelige bis schwach kugelig-eiförmige, 300—350 μ ungefähr breite, glatte, häufig glänzende, hin und wieder aber manchmal zart schollig erscheinende, mit einer deutlichen kleinen, meist etwas dunkler erscheinenden und glänzenden Papille versehene Perithizien, die einzeln, jedoch meistens in rundlichen oder länglichen, 1—4 mm großen dichten Rasen auf einem polsterförmigen, rotgelben, hervorbrechenden Stroma auftreten. Das Stroma wird aus mäßig zart- bis derbwandigen, rundlichen, oben meist in Reihen angeordneten, manchmal mit Öltropfen versehenen, bis 30 μ großen Parenchymzellen gebildet. Die Papille der Perithezien wird häufig übersehen, da die Gehäuse sehr oft schief stehen. Bei Einwirkung von Kalilauge werden die Gehäuse violett gefärbt, bei Einwirkung von Säuren nehmen sie eine orangefarbene Farbe an. In Glyzerin ist die Struktur der Perithezienwandung deutlicher zu beobachten. Das Ostiolum ist klein und schwer zu sehen und wird von ungefähr 3—5 μ großen, zartwandigen, polygonalen Zellen umgeben, die radial gereiht und in konzentrischen Schichten angeordnet erscheinen. Die Wandung der fleischigen, manchmal sogar etwas lederartig erscheinenden, selten etwas zusammenfallenden Perithezien ist ungefähr 50 μ dick und wird oben und seitlich aus knorrigen, dickwandigen, zu undeutlichen 5—7 μ großen Zellen verflochtenen Hyphen gebildet, während an der Basis die Wandung aus deutlichen, parenchymatischen, derbwandigen bis dickwandigen Zellen, die eine Größe bis zu 20 μ erreichen, aufgebaut wird, welche Zellen in die des Stromas, das häufig die Gehäuse etwas gestielt erscheinen läßt, ohne deutliche Grenze übergehen. Der Mündungskanal ist mit deutlichen Periphysen ausgestattet. Die Asci sind zylindrisch oder manchmal sehr schwach keulig, sitzend oder kurz gestielt, oben gewöhnlich gerade abgeschnitten und verdickt, achtsporig, 75—100 μ lang, 6½—9 μ breit. Die Sporen sind glatt, hyalin, ellipsoidisch gegen die beiden abgerundeten Enden sich spindelförmig verschmälernd, deutlich zweizellig, mit 2 oder 4 Öltropfen, nicht eingeschnürt, zartwandig, 13—15 μ lang, 5—5½ μ breit, meist gerade oder schief einreihig, selten oben gerade zweireihig und unten einreihig.

¹⁾ Fuckel, *Symbolae Mycologicae*, 1869. p. 180; Saccardo, *Sylloge Fung.* Bd. 2. p. 483.

²⁾ Tode, *Fungi Mecklenburg.* Bd. 2. 1791. p. 38 sub *Sphaeria* und Fries, *Summa Veget. Scandin.* 1849. p. 388; Saccardo, *Sylloge.* Bd. 2. p. 484. Winter, *Pilze.* Bd. 2. (Rabenhorst, *Kryptogamenflora*). p. 114.

³⁾ Hartig in *Untersuchungen aus dem Forstbotan. Institut*, I., pag. 88.

Ophionectria cylindrospora (Sollm.) Berl. et Vogl kann daher auf den ersten Blick mit der Lupe von *Nectria cucurbitula* (Tode) Fries unterschieden werden, denn letztgenannter Pilz zeigt keine eingefallenen Perithezien, sondern zeigt die für ihn so charakteristische Kürbisform. Mikroskopisch sind natürlich die beiden Pilze sehr leicht zu unterscheiden, denn *Ophionectria scolecospora* zeigt deutlich zellige und *Nectria cucurbitula* undeutlich kleinzellige Gehäuse, abgesehen davon, daß natürlich die gänzlich verschiedenen Sporen eine Verwechslung ausschließen.

Richtig bestimmte, von mir geprüfte Exsikkaten von *Nectria cucurbitula* (Tode) Fries sind ausgegeben in: F u c k e l, *Fungi rhenani* No. 983, S a c c a r d o, *Mycotheca italica* No. 494, *Kryptogamae exsiccatae* Mus. Palat. Vindobon. No. 965, K r i e g e r, *Fungi saxonici* No. 1672, R o u m e g u è r e, *Fungi Gallici exsiccati* No. 1016 und S y d o w, *Mycotheca Marchica* No. 472.

Nectria coccinea in Roumeguère, *Fungi selecti exsiccati* No. 7367 und Karsten, *Fungi fennici* No. 974 und *Nectria sanguinea* in Roumeguère, *Fungi selecti exs.* No. 4267 sind ebenfalls *Nectria cucurbitula* (Tode) Fries.

Dafür ist *Nectria cucurbitula* in Rehm, *Ascomycetes* No. 781b wieder *Nectria coccinea* (Tode) Fries¹⁾.

Nectria cucurbitula var. *meizospora* Rehm²⁾ ist nach meinen Untersuchungen³⁾ eine junge *Nectria discophora* Mont.⁴⁾ *N. cucurbitula* f. *alnicola* Rehm⁵⁾ ist wieder von *N. punicea* (Ktz. et Schm.) Fr.⁶⁾ nicht zu unterscheiden.

Ein grün bestäubter, auf Nadelholzrinde auftretender Pilz, der in seiner Form sehr an *Ophionectria cylindrospora* erinnert, ist die *Nectria chlorella* (Fries) Tulasne⁷⁾. Die beiden Pilze stehen einander nach der Perithezienstruktur so nahe, daß ich anfangs glaubte, daß *N. Rossellini* de Car. eine unreife, unbestäubte oder wenigstens nur undeutlich bestäubte *N. chlorella* sei. Sporen hatte ich nämlich damals bei *N. Rossellini* nicht beobachten können.

Nach einem richtig bestimmten, in K r i e g e r, *Fungi saxonici* No. 1718 (auf Rinde von *Abies pectinata*) ausgegebenen Exemplar zeigt *N. chlorella* (Fr.) Tul. anfangs kugelige, bald aber tief schüssel- oder napfförmig zusammenfallende, dunkelrotbraune bis fast schwärzliche, 300-400µ breite, an ihrer Oberfläche ganz mit spangrünen oder dunkelgrünen Körperchen überzogene und daher etwas höckerig oder warzig erscheinende, oberflächliche, steiffleischige Perithezien, die in kleinen Gruppen von 2—10 Stück oder in dichten, ungefähr 1½ mm breiten Rasen auf einem meist mäßig entwickelten hervorbrechenden Stroma, das etwas lichter gefärbt, manchmal

¹⁾ Tode, *Fg. Meckl.* Bd. 2. 1791. p. 30; Fries, *Summa Veg.* 1849. p. 388; Saccardo, *Syll.* Bd. II. p. 481.

²⁾ Rehm, i. *Hedwigia*, 1898. p. 190.

³⁾ Weese, *Studien über Nectriaceen.* II. Mitteilung. (*Zeitschr. f. Gärungsphysiol.* 4. Bd. 2. Heft. 1914. p. 114—121.)

⁴⁾ Montagne, *Prodromus Florae Ferdinandsae* ... 1835. No. 42; *Sylloge*, 1856. No. 782.

⁵⁾ Rehm, *Ascomycetes* No. 826.

⁶⁾ Kuntze u. Schmidt in *Mycolog. Hefte* I. p. 61 sub *Sphaeria*; Fries, *Summa Veget.* 1849. p. 487 sub *Nectria*; Saccardo, *Syll.* II. p. 480.

⁷⁾ Fries, *Elenchus* II, p. 21. (1828.) sub *Cenangium*; sub *Nectria* in Tulasne, *Carpologia.* Bd. 3. p. 172; Saccardo, *Syll.* Bd. 2. p. 487.

fast hyalin erscheint, auftreten. Das aus der Rinde hervorbrechende Stroma wird an der Basis aus zartwandigen, kleinen, polygonalen, ungefähr $3\ \mu$ breiten Zellen gebildet, die gegen oben größer und derbwandiger werden und eine Breite von $18\ \mu$ erreichen. Die Perithezienwandung, die außen grün bestäubt erscheint, ist ungefähr $50\ \mu$ breit und wird aus dickwandigen, kugeligen bis ellipsoidischen, ca. $14\ \mu$ großen Zellen aufgebaut, die gegen innen kleiner und zartwandiger und schließlich auch flach zusammengedrückt werden. Die periphere Schicht der Gehäusewandung wird manchmal aus kugeligen oder ellipsoidischen, derbwandigen Zellen zusammengesetzt, die als kleine Warzen vorstehen und eine etwas weniger dicke Zellwand besitzen als die zweite bis vierte Zellage. An der Basis der Gehäuse gehen die die Perithezienwandung aufbauenden, offenen, großlumigeren und derbwandigen, polygonalen Zellen in die des Stromas ohne jede schärfere Grenze über. Bei zerdrückten Perithezien ist, wenn es die grünen Körperchen nicht verhindern, der parenchymatische Aufbau zu beobachten. Das radialfaserige Ostiolum ist aber meistens dabei nicht allzu deutlich zu sehen. Der Mündungskanal der Perithezien ist mit Periphysen ausgestattet. Durch Einwirkung von Kalilauge wird die Farbe der Perithezien, die häufig ihren Sitz größtenteils nur in den peripheren Zellagen und an der Oberfläche des Stromas hat, nicht sehr verändert; meistens zeigt sich in zarten Schnitten ein leiser Übergang in einen graublauen Ton. Asci zahlreich, zartwandig, zylindrisch, oben abgerundet, sitzend oder mit kurzem, verschmälerten Stielchen, achtsporig, $50\text{--}75\ \mu$ lang, $6\text{--}8\ \mu$ breit. Sporen glatt, hyalin, zartwandig, ellipsoidisch, beidseitig abgerundet, manchmal etwas ungleichseitig gekrümmt, manchmal länglich eiförmig, zweizellig durch eine deutliche Querwand, nicht eingeschnürt, $9\text{--}12\ \mu$ lang, $4\text{--}5\ \mu$ lang, schief oder gerade einreihig im Ascus angeordnet. Fädige, verschleimende Paraphysen scheinen vorhanden zu sein.

Da bei *N. chlorella* keine Sporidien aus den ja zweizelligen Sporen auskeimen und die Bestäubung der Perithezien bedeutend dunkler ist wie bei *Ophionectria cylindrospora* (Sollm.) Berl. et Vogl var. *tetraspora*, so ist eine Verwechslung dieser beiden genannten Pilze vollständig ausgeschlossen.

Nach dem Aussehen und nach der Perithezienstruktur steht der *Ophionectria cylindrospora* (Sollm.) Berl. et Vogl die *Nectria Aquifolii* (Fries) Berkeley¹⁾, *N. sinopica* Fries²⁾ und die *N. Coryli* Fuckel³⁾ ziemlich nahe, jedoch ist eine Unterscheidung dieser Pilze ohne jede Schwierigkeit mikroskopisch durchzuführen. Letztgenannte drei Pilze treten übrigens nur auf Laubhölzern auf, während *O. cylindrospora* nur auf Nadelhölzern zu finden ist.

Eine gewisse Ähnlichkeit mit manchen Formen der *O. cylindrospora* zeigt auch die auf *Ribes* auftretende *Pleonectria Berolinensis* Saccardo⁴⁾, die öfters unrichtigerweise als *Nectria Ribis* bezeichnet wurde.

Brefeld und Tavel⁵⁾ konnten als Konidienpilz der *O. cylindrospora* eine *Tubercularia*-Form feststellen, die sie näher beschreiben und auch abbilden.

¹⁾ Fries, l. c. p. 82 sub *Sphaeria*; sub *Nectria* in Berkeley, Outlin. pag. 393; Saccardo, Syll. Bd. 2. p. 487.

²⁾ Fries, l. c., p. 81 sub *Sphaeria*; sub *Nectria* in Summa Veg. Scand., p. 388; Saccardo, Syll. Bd. 2. p. 480.

³⁾ Fuckel, Symbolae Mycolog., 1869, pag. 180; Sacc. Syll. Bd. 2. p. 483.

⁴⁾ Saccardo in Michelia, Bd. 1. p. 123; Syll. Bd. 2. p. 559.

⁵⁾ Brefeld und Tavel, Mykol. Untersuchungen. Bd. 10. p. 179—180.

6. *Pleonectria appendiculata* Vouaux (1912).

Nach dem Original Exemplar aus dem Herbarium V o u a u x zeigt dieser auf einem kleinwinzigen, unbestimmbaren Thallus auf alter Eiche bei Docelles in den Vogesen von Abbé H a r m a n d gefundene Pilz¹⁾ blaß orangerote, rosafarbene, fleischrote, später schmutzig-gelbliche, eiförmige oder birnförmige, 150—290 μ breite, 230—350 μ hohe, weichfleischige, mit einer etwas dunkler gefärbten Papille versehene, oberflächliche, einzeln oder zu Gruppen von mehreren Exemplaren, die fast miteinander verwachsen können, auftretende Perithezien, die mit Ausnahme des Scheitels mit einem weißen, ziemlich dichten Filz von hyalinen, septierten, zartwandigen, $2\frac{1}{2}$ —4 μ breiten, stumpfen Hyphen versehen sind. Die Hyphen nehmen von oben nach unten an Länge zu und gehen ohne deutliche Grenze in die langen Haare des die Basis der Gehäuse umgebenden spinnfädigen, weißen Subikulums über. Das zartradialfaserige Ostiolum liegt auf der Papille, die gewöhnlich als roter Punkt in dem weißen Filz der Gehäuse erscheint. Durch Einwirkung von Kalilauge wird die orangerote Farbe der Perithezien, die sich auch manchmal etwas auf den Nukleus überträgt, nicht verändert. Die Perithezienwandung ist ungefähr 28 μ dick und wird aus zartwandigen, polyedrischen, flachen, 4—8 μ in der Hauptausdehnung großen Zellen gebildet, die infolge des Filzes bei Betrachtung von zerquetschten Perithezien nicht deutlich zu beobachten sind. Die Asci sind zylindrisch stumpf keulenförmig, fast sitzend, achtsporig, doch auch manchmal 4- oder 6-sporig. Genaue Messungen konnte ich leider nicht vornehmen, da die meisten Perithezien schon überreif waren. Nach V o u a u x sind die Asci 68—140 μ lang, 13—17 μ breit. Sporen hyalin, glatt, ziemlich unregelmäßig in der Form, zuerst mit einer Querwand dann mit 2 oder 3 und schließlich mit 6—7 deutlichen Querwänden und in einzelnen Zellen mit einer Längswand, meist breit spindelförmig, beidendig scharf zugespitzt und an jedem Ende in eine ungefähr 4—10 μ lange, 1 μ breite, hyaline Cilie verlängert, die manchmal auch später verschwindet, gerade oder etwas gekrümmt, an den Querwänden manchmal etwas eingeschnürt, oft mit Öltröpfen versehen, zartwandig, 20—36 μ lang, 9—12 μ breit, einreihig, oder zweireihig in Ascus angeordnet. Die Asci mit zweireihigen Sporen sind dann ungefähr 20 μ breit. Der Mündungskanal ist mit deutlichen, hyalinen Periphysen ausgestattet. Paraphysen fädig und bald verschleimend.

Vergleicht man diese Beschreibung mit v. H ö h n e l s²⁾ Beschreibung und Abbildung von *Ciliomyces oropensis* (Cesati) v. Höhnel, so sieht man sofort, daß *Pleonectria appendiculata* Vouaux vollständig mit diesem Pilz zusammenfällt. v. Höhnel hat nämlich ein Original Exemplar von *Nectria oropensis* Cesati³⁾ aus Erbar. Crittogam. Ital., No. 540 untersucht und festgestellt, daß dieser Pilz keine *Nectria* darstellt, sondern eine *Pleonectria* mit Subikulum repräsentiert, deren Sporen dadurch merkwürdig sind, daß sie an beiden Enden je eine Cilie besitzen. v. Höhnel stellte für diese interessante Form eine neue Gattung auf, die er *Ciliomyces* v. Höhn. benannte und die er infolge des fädigen Subikulums, der zugespitzten Sporen und wegen des Auftretens auf einem Flechtenpilz zu den Hypomycetaceen stellte. Der Gegensatz zwischen *Nectria*-

¹⁾ V o u a u x, i. Bull. de la Société mycolog. de France. Bd. 28. 1912. 2 fasc. p. 17.

²⁾ v. H ö h n e l, i. Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wissensch. Wien, math.-nat. Kl. Bd. 115. 1906. Abt. 1. p. 672. Fig. 2.

³⁾ C e s a t i, i. Botan. Zeitg. 1857. p. 406. (Exs.: K l o t z s c h i i, Herb. vivum mycol., Edit. nova Cent. Bd. 5, No. 524 a. Erbar. Crittog. Ital., No. 540.)

ceen und Hypomycetaceen ist meiner Meinung nach aber nicht sehr groß, eigentlich fast Null, und die Gattung kann ganz gut wie auch Hypomyces zu den Nectriaceen gerechnet werden. Hypomyces und Nectria gehen ganz deutlich ineinander über und sind voneinander manchmal schwer zu trennen.

Die Originalpräparate von *Ciliomyces oropensis* stimmen auch vollständig mit denen von *Pl. appendiculata* Vouaux überein, und letztgenannter Pilz muß daher vollständig gestrichen werden.

Nach der allerdings ganz ungenügenden Beschreibung ist es für mich ziemlich sicher, daß *Pleonectria lichenicola* (Crouan) Saccardo¹⁾ mit *Ciliomyces oropensis* zusammenfällt, eine Ansicht, die auch v. Höhnelt vertritt. Ein von Mouton²⁾ als *Nectria lichenicola* Crouan bestimmter Pilz, der bei Beaufays in Belgien gefunden wurde, stimmt sehr gut mit *C. oropensis* und mit *Pl. appendiculata* überein.

Ein mit *Ciliomyces oropensis* verwandter Pilz scheint, wie auch Vouaux vermutet, *Paranectria affinis* (Desmazières) Saccardo³⁾ zu sein. Ohne Originalexemplar läßt sich aber in dieser Frage nichts Sicheres aussagen. *Nectria affinis* [Greville]⁴⁾ scheint aber nach der Abbildung und nach der Beschreibung der Sporen, die nur eine oder zwei Querwände haben sollen, ein ganz anderer Pilz zu sein.

7. *Nectria ochracea* Greville et Fries (1828).

Das Originalexemplar dieses Pilzes aus dem Herbarium E. Fries in Upsala besteht aus einem ungefähr 6 cm langen Rindenstück, das auf der einen Seite unreife, junge, daher noch gelbe, vertrocknete Perithezien von *Nectria cinnabarina* (Tode) Fries⁵⁾ und auf der anderen Seite rote Perithezien von demselben Pilze trägt. Die gelben Perithezien, die die *Nectria ochracea* Grev. et Fries⁶⁾ repräsentieren, stimmen nämlich im Bau vollständig mit *N. cinnabarina* (Syn: *N. purpurea* [Linné] Wils. et Seav.) überein⁷⁾ und werden auch bei Einwirkung von Kalilauge etwas dunkler gefärbt. Da auf demselben Rindenstück bei den gelben Perithezien auch der Konidienspiz von *Nectria cinnabarina*, die *Tubercularia vulgaris* Tode⁸⁾ zu finden ist, so ist es für mich außer jedem Zweifel, daß *Nectria ochracea* Grev. et Fr. mit *Nectria cinnabarina* zusammenfällt und als eigene Art gestrichen werden muß.

Daß der Pilz eine große Ähnlichkeit mit *Nectria cinnabarina* zeigt, ist auch dem Autor nicht entgangen gewesen.

¹⁾ Crouan, Finist. p. 256 sub *Nectria*; sub *Pleonectria* Saccardo in Michelia. Bd. 1. p. 325.

²⁾ Mouton, i. Bull. Soc. roy. Botanique Belgique. 1897. Bd. 36. Teil II. p. 15.

³⁾ Desmazières, Note 23. sur plantes crypt. France. p. 6 sub *Sphaeria*; sub *Paranectria* in Saccardo, Syll. Bd. 2. p. 552.

⁴⁾ Greville, Scottish cryptogamic Flora. 1826. p. 186.

⁵⁾ Tode, Fungi Mecklenburg. Bd. 2. 1791. p. 9 sub *Sphaeria*; sub *Nectria* in Fries, Summa Veget. Scand., 1849. p. 388. (Synonyme: *Creonectria purpurea* (Linné) Wilson et Seaver, *Nectria Sambuci* Ellis et Everh., *N. Meliae* Earle, *N. Russelii* Berk. et Broome, *N. offuscata* Berk. et Curt., *N. nigrescens* Cooke nach Seaver in Mycologia. 1909. p. 184.)

⁶⁾ Fries, Elenchus fungorum. Bd. 2. 1828. p. 79; Saccardo, Sylloge Bd. 2 p. 487; Winter, Pilze, p. 115; Tulasne, Carpologia Bd. 3. p. 86.

⁷⁾ Linné, Spec. Plant. 1753. Bd. 2. p. 1158 sub *Tremella purpurea*; sub *Nectria* in Journ. Mycol. Bd. 13. 1907. p. 51.

⁸⁾ Tode, Fungi Mecklenb. Bd. 1. 1790. p. 18.

Nectria ochracea in Sydow, Mycotheca Marchica No. 4133 (auf *Ulmus*) stimmt mit dem Originalexemplar nicht überein, läßt sich aber auch nicht sicher bestimmen. Wahrscheinlich handelt es sich um eine *Nectria ochroleuca* (Schwein.) Berk¹⁾.

8. *Nectria Ribis* (Tode) Oudemans (1790).

Von diesem Pilz ist in Oudemans, Fungi Neerlandici Exsiccati als No. 168 (auf *Ribis rubrum*) ein Exsikkat ausgegeben, das allein geeignet ist, Aufklärung über diese bisher dunkle Art zu bringen. Oudemans führt Rabenhorst als Autor dieser Spezies an und nennt sie *Nectria Ribis* Rabenhorst. Oudemans zitiert dabei ebenso wie Saccardo²⁾ Rabenhorst, Fungi Europaei No. 264. Nun ist aber *Nectria Ribis* weder unter dieser noch unter einer anderen Nummer in Rabenhorsts Fungi Europaei ausgegeben worden. Man kann daher nur Oudemans als zweiten Autor der Spezies ansehen und sein Exsikkat muß folgerichtig als Originalexemplar der *Nectria Ribis* (Tode) Oudemans betrachtet werden.

Das eingangs erwähnte Exsikkat ist aber nichts anderes als *Nectria cinnabarina* (Tode) Fr. *Nectria Ribis* (Tode) Oud. ist also als eigene Art zu streichen. In den Perithezien und in den Sporen ist keinerlei Unterschied gegenüber *N. cinnabarina* zu finden.

Nectria Ribis in Rehm, Ascomyces No. 635b in Vize, Micro-Fungi Britannici No. 153, in Saccardo, Mycotheca Italica No. 493, in Sydow, Mycotheca Marchica No. 1251, in Sydow, Mycotheca germ. No. 389, in Briosi e Cavara, I Funghi parassiti delle piante coltivate od utili No. 216 ist immer *Nectria cinnabarina* (Tode) Fr.

Nectria Ribis in Kryptogamae exsiccatae No. 820, in Jacewsky, Komarov, Tranzschel, Fungi Rossiae Exsiccati No. 81 und in Ellis, North American Fungi No. 470 ist *Pleonectria Berolinensis* Saccardo³⁾. Roumeguère, Fungi gall, (?) exs. No. 1648 ist unbestimmbar.

Daß *Nectria Ribis* (Tode) von *N. cinnabarina* kaum zu unterscheiden sein wird, hat bereits auch Winter vermutet.

9. *Nectria tasmanica* Berkeley (1860).

Nach einem winzigen Stückchen des Originalexemplars aus dem Herbarium Berkeley⁴⁾ (Kew), welches Fragment ich im Herbarium P. A. Saccardo (Padua) vorfand, zeigt *Nectria tasmanica* Berkeley fast kugelige, nach unten häufig etwas verschmälerte, kahle, glatte, rotbraune, lederige, mit einer deutlichen glänzenden Papille, die auf einer dunkleren, deutlich abgegrenzten Scheibe aufsitzt, versehene, nicht oder nur kaum einsinkende, bis 550 μ breite Perithezien, die auf einem braungelben oder grünlichgelben,

¹⁾ Schweinitz, Trans. Amer. Philos. Society. II. Bd. 4. 1832. p. 204 sub *Sphaeria*; sub *Nectria* in Grevillea. Bd. 4. 1875. p. 16. Zwei Exemplare, die als *Nectria ochracea* bestimmt worden waren und von Chile und von der Insel Fernandez (siehe Montagne in Annal. Scient. nat., Ser. II. T. 3. 1835. p. 353) herkommen, stimmen nach den Exemplaren im Herbarium des naturhistorischen Museums in Paris (Herbar Tulasne) auch vollständig zu *Nectria ochroleuca* (Schw.) Bk.

²⁾ Saccardo, Sylloge. Bd. 2. p. 480.

³⁾ Saccardo in Michelia. Bd. 1. p. 123. Seaver (Mycologia. 1909. p. 205) stellt *Pleonectria Berolinensis* Sacc. in die Gattung *Thyronectria* Sacc.

⁴⁾ Berkeley, Flora Tasman. Bd. 2. 1860. p. 279.

faserigen polsterförmigen Stroma ziemlich dicht rasig auftreten. Das mir zur Verfügung stehende Material zeigt einen Rasen im Durchmesser von 5 mm. Einzelne Perithezien erscheinen so, als ob sie mit der Basis in das Stromagewebe, das aus der Rinde hervorbricht und stellenweise faserig, stellenweise aber wieder pseudoparenchymatisch erscheint, eingesenkt wären. Durch Einwirkung von Kalilauge werden die Perithezien etwas dunkler gefärbt, doch ist von einer ausgesprochenen Violettfärbung, wie sie z. B. bei *Nectria cinnabarina*, *N. galligena* usw. zu verzeichnen ist, wahrscheinlich infolge des Alters nichts mehr deutlich zu beobachten. Das unter dem Mikroskop braun erscheinende Stromagewebe veränderte seine Farbe dabei ebenfalls nicht. Die Perithezienwandung ist ungefähr 56 μ dick und wird aus zwei deutlich geschiedenen Schichten gebildet, zu denen sich an der Peripherie noch eine ziemlich undeutliche Schichte aus einer Lage hyaliner, zartwandiger, flach ellipsoidischer Zellen dazu gesellt. Die äußere der beiden erstgenannten Schichten ist die mächtigste (ca. 46 μ dick) und wird aus dickwandigen, knorrigen, senkrecht gegen die Oberfläche gerichteten, rotbraunen Hyphen gebildet; die innere wird aus ganz flachgedrückten, hyalinen, zart- bis derbwandigen, undeutlich begrenzten Zellen aufgebaut. Die periphere Schichte, die meist aus einer Zellage nur besteht, ist gewöhnlich nicht an der ganzen Gehäuseoberfläche deutlich zu beobachten. Manchmal sind auch die äußersten Zellen schon abgefallen, so daß Medianschnitte durch das Fehlen dieser Zellage eine stachelige, gekerbte Außenkontur zeigen. Bei Betrachtung von zerdrückten Gehäusen ist die äußerste Schichte, deren Zellen eine Größe bis 25 μ erreichen können, selten zu sehen und die Perithezien erscheinen daher ungemein undeutlich kleinzellig (3—4 μ große Zellen). Der charakteristische aber sehr schwer zu beschreibende Aufbau der Gehäusewandung ist also nur in zarten Medianschnitten zu beobachten. Das deutliche, runde, von radialgelagerten, braunen Fasern umgebene Ostium befindet sich auf der meist etwas glänzenden und dunkleren Papille, die ihrerseits auf einer schwarzbraunen, mehr oder weniger deutlich abgegrenzten, ungefähr 180 μ breiten Scheibe aufrucht. Die Basis der Perithezienwandung geht manchmal ohne deutliche Grenze in das parenchymatische Stromagewebe über. Ist aber das Stromagewebe mehr locker faserig, so ist die Grenze zwischen Stroma und Wandung deutlich zu beobachten. Das faserige Stroma wächst auch zuweilen zwischen einzelnen Perithezien etwas nach aufwärts und ist dann auch bei der Lupenbetrachtung zwischen den Gehäusen zu sehen, so daß der Pilz eine gewisse Ähnlichkeit mit einer *Endothia* bekommt. Da das vorliegende Material von *Nectria tasmanica* schon etwas überreif ist, so kann ich über die Asci und die Sporen nur beiläufiges aussagen. Die Asci sind meiner Beobachtung nach zylindrisch oder schwach keulig, oben gerade abgeschnitten, zartwandig, sitzend, 85—115 μ lang, 7—10 μ breit. Die Sporen sind hyalin, glatt, zartwandig oder mäßig derbwandig, ellipsoidisch, beidendig abgerundet, manchmal etwas ungleichseitig gekrümmt, gewöhnlich nicht eingeschnürt, durch eine Querwand deutlich zweizellig, jede Zelle mit 1 oder 2 Öltröpfchen, 15—20 μ lang, 7—9 μ breit, gerade oder schwach schief einreihig im Ascus angeordnet. Paraphysen scheinen zartfädig zu sein.

Nectria tasmanica, welcher Pilz auf abgestorbener Rinde von Archer in Tasmanien gefunden wurde, steht nach dem sehr charakteristischen Perithezienwandungsbau und nach der Form der Gehäuse der *Nectria mammoidea* Phil. et Plowr.¹⁾ sehr nahe. Das von mir unter-

¹⁾ Grevillea. 3. Bd. 1875. S. 126. Taf. 42. Fig. 5.

suchte Originalexemplar des letztgenannten Pilzes aus dem Botan. Museum in Kew zeigt allerdings nur wenige überreife Sporen und keine Asci (die Autoren machen auch keine Angaben über die Asci), jedoch nach all dem, was man noch beobachten kann, wird es schwer sein, *Nectria tasmanica* Berk. und *N. mammoidea* Phil. et Plowr. sicher auseinanderzuhalten.

Mit *Nectria mammoidea* fällt nach meinen Untersuchungen¹⁾ *Nectria nelumbicola* P. Hennings²⁾ (1898) vollständig zusammen, wie ich schon früher mitgeteilt habe. *Nectria Rubi* Osterwalder³⁾, betrachte ich als eine kleinsporige Varietät von *N. mammoidea*. Wollenweber⁴⁾ stellt infolge des Auftretens von Chlamydosporen *N. Rubi* in die Gattung *Hypomyces* und nennt sie *Hypomyces Rubi* Wollenweber. Das Auftreten echter Chlamydosporen bei der Kultur stellt nämlich nach Wollenweber⁵⁾ ein gutes Unterscheidungsmerkmal zwischen den Gattungen *Nectria* und *Hypomyces* dar.

Nach der Perithezienstruktur und den Sporen zeigt aber der Pilz keinerlei engere Beziehungen zur Gattung *Hypomyces* nach der heutigen Begrenzung. Ich kann mich daher nicht für die Zuteilung von *N. Rubi* zu dieser Gattung aussprechen.

In den Verwandtenkreis der *Nectria tasmanica* gehören nach der Perithezienwandstruktur noch *Nectria umbilicata* P. Henn.⁶⁾, mit welcher Art *N. oculata* v. Höhn⁷⁾ nach meinen Untersuchungen zusammenfällt, und *N. leocarpoides* Kalchbr. et Cooke⁸⁾, von der wieder *N. polita* Theiss⁹⁾ nicht verschieden sein dürfte. *Nectria umbilicata* P. Henn. und *N. leocarpoides* Kchbr. et Ck. stehen einander aber auch ungemein nahe.

Nach meinen Studien am Originalexemplar aus dem Herbarium v. Höhn¹⁰⁾ ist auch *Nectria lucida* v. Höhn¹⁰⁾ in diesen Verwandtenkreis, der sicher eine natürliche Entwicklungsreihe darstellt, zu rechnen. *Nectria lucida* ist von v. Höhn¹⁰⁾ auf lebenden Zweigen in der Nähe von Tjiburrum bei Tjibodas (Java) in Gesellschaft von *Nectria coronata* P. et S. und *N. subfurfurea* P. Henn. et E. Nym. gefunden worden. Mikroskopisch läßt sich *Nectria lucida* v. Höhn¹⁰⁾ von *N. umbilicata* P. Henn. (Syn: *N. oculata* v. Höhn¹⁰⁾) nicht sicher unterscheiden und ich zögere keinen Augenblick, den erstgenannten Pilz in den Formenkreis des letzteren zu ziehen. Die Scheibe am Scheitel der Perithezien ist bei *N. lucida* ganz deutlich entwickelt und bei älteren Exemplaren scharf berandet und dunkler gefärbt, nur ist der Gegensatz zwischen der Farbe des Diskus und des übrigen Peritheziiums nicht so grell wie *N. oculata* v. Höhn¹⁰⁾.

¹⁾ Weese, i. Zeitschr. f. Gärungsphysiol. 1. Bd. p. 131.

²⁾ P. Hennings in Verhandlungen d. botan. Vereins d. Provinz Brandenburg. Bd. 40. 1898. Taf. 2. Fig. 4.

³⁾ Osterwalder in Berichte d. Deutsch. Botan. Gesellsch. 1911. p. 611—622 u. Weese, l. c. pag. 126—132. Osterwalders Bemerkungen zu meiner Arbeit siehe Zeitschr. f. Gärungsphysiol. Bd. 3. 1913. p. 212—213 und meiner Entgegnung auf Osterwalders Bemerkungen siehe ebenda. p. 214—223.

⁴⁾ Wollenweber in Phytopathology, 1913. p. 197—242.

⁵⁾ Wollenweber, l. c. p. 27.

⁶⁾ P. Hennings, Hedwigia. 1902. p. 3.

⁷⁾ v. Höhn¹⁰⁾ in Sitzungsber. K. Akad. d. Wissensch., math.-naturw. Kl. Abt. 1. Wien. 1909. p. 1475.

⁸⁾ Grevillea. 1880. Bd. 9. p. 27.

⁹⁾ Theissen in Annales Mycolg. Bd. 9. 1911. p. 53. Taf. 5. Fig. 21., Taf. 6. Fig. 56, 57.

¹⁰⁾ v. Höhn¹⁰⁾, l. c. p. 298 (1909).

zu beobachten. *N. umbilicata* stammt aus Brasilien (leg. Möller), während *N. lucida* und *N. oculata* beide in Java von v. Höhnelt gesammelt wurden.

10. *Nectria guaranítica* Spegazzini (1888).

Von diesem Pilz konnte ich ein authentisches Exemplar, das in *Balansa*, *Plantes du Paraguay* No. 4102 ausgegeben ist, untersuchen und konnte durch meine Studien feststellen, daß die Vermutung v. Höhnelt's, daß dieser Pilz mit *Nectria diploa* Berkeley et Curtis¹⁾ zusammenfalle, vollständig richtig sei. Das mir vorgelegene Exemplar war zwar nicht ganz reif, jedoch zeigte sich die Identität mit *Nectria diploa*, von welchem Pilz ich auch ein Original Exemplar aus dem Herbarium Berkeley (Kew) studieren konnte, so deutlich, daß nicht die geringsten Zweifel mehr möglich sind.

Die meisten Sporen von *Nectria diploa* (Syn. *N. guaranítica* [Speg.]²⁾ zeigen nur eine Querswand, doch bei einzelnen sind aber auch 2 oder 3 Querswände zu beobachten. Es wäre also auch eine Zuteilung dieses Pilzes zur Gattung *Calonectria* de Not. möglich.

Bei der Lupenbetrachtung erinnert *Nectria diploa* Berk. et Curt. außerordentlich an die ebenfalls so unregelmäßig zusammenfallenden Perithezien der *Nectria sanguinea* (Bolt.) Fries³⁾ (Synonym: *N. epispheeria* (Tode) Fr.⁴⁾). Jedoch auf Grund der deutlich gestreiften, großen Sporen kann *Nectria diploa* mit *N. sanguinea* in keinem Fall verwechselt werden.

Da *Nectria diploa* schon 1868 beschrieben wurde, so ist die im Jahre 1888 publizierte *Nectria guaranítica* Speg. als eigene Art zu streichen.

Seaver⁵⁾ hat *Nectria diploa* in seine Gattung *Creonectria* gestellt, wohin sie aber nicht gehört, da sie kein Stroma besitzt. Meiner schon an mehreren Orten ausgesprochenen Meinung nach hat überhaupt diese Gattung keinerlei Berechtigung.

11. *Nectria congesta* Saccardo (1881).

Nach einem von mir untersuchten Original Exemplar aus dem Herbarium Saccardo gehört *Nectria congesta* Saccardo⁶⁾, welcher Pilz auf abgestorbenen Rhizomen von *Hedychium* im botanischen Garten zu Padua gefunden wurde, in den Formenkreis der *Nectria ochroleuca* (Schweinitz) Berkeley⁷⁾. Asci konnte ich bei meinem Material leider nicht beobachten, doch nach meiner Meinung dürften sie jedenfalls nicht so groß sein als in der Originaldiagnose angegeben ist. Bei einzelnen Perithezien zeigt sich auch ein leiser Anklang an die mit *N. ochroleuca* nahe verwandte

¹⁾ Berkeley a. Curtis in Journ. of the Linnean Society. 1868. p. 378.

²⁾ Spegazzini, Fungi Guaranit. Bd. 2. 1888. Nr. 90.

³⁾ Bolton, Fungi Halifax. Bd. 3. 1789. p. 121 sub *Sphaeria*, sub *Nectria* in Fries, Summa Veget. Scand., 1849. p. 388.

⁴⁾ Tode, Fungi Meckl. Bd. 2. 17 l. p. 21 sub. *Sphaeria*; sub *Nectria* in Fries, Summa Veg. Sc. p. 388. Über die Synonymie siehe Weese, Zeitschr. f. Gärungsph. s., 1912. p. 149.

⁵⁾ Seaver in Mycologia, Bd. 1. 1909. p. 190.

⁶⁾ Saccardo in Michelia. Bd. 2. 1881. p. 256.

⁷⁾ Schweinitz in Transact. Americ. Phil. Soc., Bd. 2. 1832. p. 204 sub. *Sphaeria*; sub *Nectria* in Grevillea, 4. Bd. 1875. p. 16.

und mit ihr durch Übergänge verbundene *N. subquaternata* Berk. et Br.¹⁾.

Saccardo bezeichnet die *N. bactridioides* Berk. et Br.²⁾ als ähnlichen Pilz von *N. congesta*. Nach der Perithezienstruktur sind aber die beiden Pilze total verschieden.

12. *Nectria Rousseauana* Roumeguère et Saccardo.

Die Untersuchung eines Original Exemplars von *Nectria Rousseauana* Saccardo et Roumeguère³⁾ aus dem Herbarium Saccardo zeigte mir, daß dieser Pilz in den Verwandtenkreis der *Nectria cinnabarina* (Tode) Fries⁴⁾ (Syn: *N. purpurea* (Linné) Wilson et Seaver⁵⁾) gehört. Der Pilz ist jedoch gänzlich überreif, so daß es unmöglich ist über ihn vollständig ins Klare zu kommen. Asci konnte ich (sowie auch die Autoren) nicht beobachten. Die Sporen zeigen eine große Ähnlichkeit mit *Nectria cinnabarina*. Die spindelförmigen Sporen sind sicher nicht die normalen, sondern die zylindrischen, die mit denen von *N. cinnabarina* sehr gut übereinstimmen. Es erscheint mir daher sehr wahrscheinlich, daß *N. Rousseauana* nichts anderes als eine etwas glattere, überreife *N. cinnabarina* darstellt.

13. *Nectria aureo-fulva* Cooke et Ellis (1878).

Von diesem Pilz ist ein authentisches Exemplar in Ellis, North American Fungi No. 574 ausgegeben.

Auf Grund der Untersuchung dieses Exemplars stelle ich *Nectria aureo-fulva* Ck. et Ell.⁶⁾ in den großen Formenkreis der *Nectria ochroleuca* (Schwein.) Berk. Seaver faßt auch *N. aureo-fulva* als Synonym von *N. ochroleuca* (Schw.) Berk. auf.

Die Originalbeschreibung von *N. aureo-fulva*, welcher Pilz auf *Magnolia* (New Jersey) gefunden wurde, ist vollständig ungenügend.

Nectria depauperata in Ellis, North American Fungi No. 677 (auf *Clethra alnifolia*, New Jersey; leg. Ellis et Harkness 1880) gehört auch in den Formenkreis der *N. ochroleuca* (Schw.) Bk. Wenn dieses Exemplar richtig bestimmt ist, so ist *N. depauperata* Cooke⁷⁾ als eigene Art zu streichen, welche Ansicht auch Seaver vertritt. In der vollständig unzureichenden Originalbeschreibung von *N. depauperata* Ck. wird der Pilz als cochenillefarben bezeichnet, doch davon ist bei meinem Exemplar nichts zu sehen gewesen.

Seaver bezeichnet auch *Nectria vulgaris* Spegazzini⁸⁾ als mit *N. ochroleuca* identisch. Von letztgenanntem Pilz habe ich keine Original exemplare gesehen, doch nach dem von Saccardo bestimmten Exemplar im Herbarium Saccardo muß ich der Seaverschen Anschauung vollständig zustimmen. Übrigens stimmt Spegazzinis ausführliche Beschreibung ausgezeichnet zu *Nectria ochroleuca*.

¹⁾ Berkeley a. Broome in Journ. Linnean Society. 1873. Bd. 14. p. 116.

²⁾ Berkeley a. Broome, l. c. 1873. p. 15. Näheres über diesen Pilz siehe v. Höhnelt, Fragm. z. Mykologie. 14. Mittlg. u. Weese in Zeitschr. f. Gärungsphysiol. Bd. 4. 1914. p. 126—129.

³⁾ Revue Mycologique. 1883. Taf. 41. Fig. 19.

⁴⁾ Tode, Fungi Mecklenb. Bd. 2. 1791. p. 9 sub. *Sphaeria*; sub *Nectria* in Fries, Summa Veg. Sc. 1849. p. 388.

⁵⁾ Linné, Spec. Plant. Bd. 2. 1753. p. 1158; sub *Tremella purpurea*; sub *Nectria* in Journ. Mycol., 13, 1907. p. 51.

⁶⁾ Cooke et Ellis in Grevillea. Bd. 7. 1878. p. 8.

⁷⁾ Cooke in Grevillea. Bd. 7. 1878. p. 50. Cooke hat den Pilz auf *Yucca aloifolia* (Aiken Carolina Amer. bor.) beschrieben.

⁸⁾ Spegazzini in Anal. Soc. Ci. Argent. Bd. 12. 1881. p. 75.

Nectria ochroleuca, von welchem Pilz ich noch eine größere Anzahl Synonyme festgestellt habe, scheint in den Tropen zu den häufigsten *Nectria*-Arten zu gehören. Doch kommt dieser Pilz jetzt auch schon in Deutschland vor. Wahrscheinlich hat er da von den tropischen Pflanzen der Gewächshäuser seinen Ausgang genommen. Bisher wurde meines Wissens die *N. ochroleuca* in Deutschland auf Rinde von Ahorn und Linde (botanischer Garten Berlin, leg. P. Hennings., det. Weese) und auf *Sarothamnus scoparius* (nach meinen Untersuchungen¹⁾ fälschlich als *N. Daldiniana* bezeichnet) in Münster (leg. v. Tavel) und im Hattenheimer Wald (Nassau, leg. F u c k e l) gefunden.

14. *Nectria Noackiana* H. Sydow (1907).

Dieser in Rehm, Ascomycetes No. 1744 ausgegebene, in Araraquara (Prov. São Paulo, Brasilien) von F. Noack auf Lianenrinde gesammelte charakteristische Pilz sieht äußerlich der *Nectria guarapiensis* Spegazzini²⁾, welche Art ich an authentischem Material aus Balansa, Plantes du Paraguay No. 2758 studieren konnte, sehr ähnlich. Auch der Aufbau der Perithezienwandung weist auf die nahe Verwandtschaft von *Nectria Noackiana* Syd.³⁾ und *N. guarapiensis* Spez. hin. Auf Grund der Sporen können aber diese beiden Pilze sehr leicht auseinander gehalten werden, denn der Sydowsche Pilz besitzt größere Sporen als der von Spegazzini.

15. *Nectria Balansae* Spegazzini (1883).

Nach einem Originalexemplar, das in Balansa, Plantes du Paraguay No. 3413 ausgegeben ist, gebe ich von *Nectria Balansae* Speg.⁴⁾ folgende Beschreibung.

Die Perithezien sind zinnoberrot, hell mennigrot, orangegelb mennigfarben bis blutrot oder braunrot, kugelig, 300—400 μ breit, trocken nicht zusammenfallend, fest fleischig, unregelmäßig kleinwarzig, oberflächlich und treten einzeln ohne Stroma oder in dichten Rasen bis zu 5 mm Größe auf einem deutlich entwickelten, roten, aus der Rinde hervorbrechenden, polsterförmigen Stroma auf. Die Farbe der Perithezien wechselt also außerordentlich je nach dem Alter. Bei Einwirkung von Kalilauge nehmen die roten Perithezien von *N. Balansae* eine blauviolette, bei Einwirkung von einer Säure eine gelbe Färbung an. Das Stroma, das in seiner Ausbildung sehr wechselt, wird im unteren Teile aus kleineren, zartwandigen Zellen gebildet, die gegen oben an Größe zunehmen und dickwandig werden. Die größeren Stromazellen schwanken in ihrer Breite zwischen 12 und 25 μ . Die Wandung der Perithezien ist 35—55 μ breit und wird außen aus einer Anzahl Lagen dickwandiger, rundlicher oder polyedrischer, 8—20 μ großer Zellen aufgebaut, welche Zellen auch die an der Oberfläche auftretenden, in ihrer Größe schwankenden Warzen zusammensetzen. Die innere Schichte der Gehäusewandung wird aus zartwandigeren, flach gedrückten Zellen gebildet. Die zerdrückten Perithezien erscheinen bei der mikroskopischen Betrachtung deutlich parenchymatisch. Das kleine, runde, von zartwandigen, kleinen, in konzentrischen Lagen angeordneten Zellen umgebene Ostium befindet sich am glatten etwas dunkler gefärbten, als winzigen Punkt erscheinenden Scheitel des Gehäuses. Asci zahlreich, sehr zartwandig, keulenförmig, sitzend oder ganz kurz

¹⁾ Weese in Mycol. Centralbl. 1914. Bd. 4. p. 182.

²⁾ Spegazzini, Fungi Guaranitici. Pugillus. Bd. 1. p. 25.

³⁾ Annales Mycologici. 1907. p. 358.

⁴⁾ Spegazzini, Fung. Guar. Pug. Bd. 1. 1883. p. 233.

gestielt, 50—115 μ lang, 10—15 μ breit, 4—5-sporig oder auch 7—8-sporig. Die Wandung der Asci ist sehr schwer zu sehen. Die Sporen sind hyalin oder sehr schwach gelblich, glatt, breitelliptisch oder länglich elliptisch sich nach beiden Seiten spindelförmig verschmälernd, beidendig abgerundet, mit einer deutlichen Querwand, jede Zelle mit 1 oder 2 Öltropfen versehen, an der Querwand nicht eingeschnürt, mehr oder weniger deutlich längsgestreift, 14—30 μ lang, $5\frac{1}{2}$ —10 μ breit, schief einreihig, meist aber oben zweireihig und unten einreihig im Ascus angeordnet. Die Größe der Sporen wechselt also bei diesem Pilz außerordentlich. Paraphysen scheinen sehr zartfädige, hyaline und gegabelte vorhanden zu sein.

Mit dem Original Exemplar stimmt *N. Balansae* in Rick, Fungi austro-amer. No. 86 gut überein. Auch bei diesem Exemplar sind die Perithezien keinesfalls in ein Stroma Gewebe eingesenkt, wie es Spegazzini beschreibt, sondern stehen ganz frei.

Nach v. Höhnelt¹⁾ fällt *Nectria subfurfurea* P. Henn. et E. Nym.²⁾ vollständig mit *N. Balansae* zusammen. v. Höhnelt hat *N. Balansae* Speg., die ursprünglich in Brasilien gefunden wurde, ebenso wie E. Nyman auch auf Java entdeckt.

In den Formenkreis der *Nectria Balansae* Spegazzini gehört nach meinen Untersuchungen auch die *Nectria congensis* Sydow³⁾, welche Art auf Baumrinde im Kongo von Vanderyst gefunden wurde. Die Perithezien sind zwar orangegelb bis rostrot, doch besagt dieser Unterschied nichts, da ja bei der typischen *N. Balansae* ganz dieselben Farben vorkommen. Daß auch hier das bekannte *Nectria*-Rot auftritt, geht schon aus der Farbenveränderung bei Einwirkung von Kalilauge ganz deutlich hervor. Die Perithezien werden nämlich bei Hinzusetzung von Kalilauge blauviolett gefärbt. Allerdings in den Sporen zeigt sich schon ein deutlicher Unterschied, da dieselbe die Größe von denen der typischen *N. Balansae* nicht erreichen. Sydow führt 14—18 μ = 5—6,5 μ als Maße bei seinem Pilze an. Doch auch dieser Unterschied bedeutet nicht soviel, wenn man bedenkt, daß der Pilz jedenfalls noch nicht so entwickelt ist wie die Original Exemplare von *N. Balansae*.

Die rostbraune Farbe der Perithezien weist ja deutlich darauf hin, daß es sich um ein jugendliches Stadium handelt. Die Längsstreifung der Sporen ist bei *N. congensis* manchmal nur schwach zu beobachten. Als selbständige Art wird also die *N. congensis* Syd. nicht aufrecht erhalten werden können. Allenfalls könnte man sie als Varietät gelten lassen.

Nectria hematochroma Spegazzini⁴⁾ in *Balansa*, Plantes du Paraguay No. 3413 paßt vollständig zu *Nectria Balansae* Speg., stimmt aber mit der Originalbeschreibung von *N. hematochroma* gar nicht überein. Das genannte Exsikkat kann also nicht als authentisches betrachtet werden.

Nach dem Perithezienbau stimmt die *Nectria sakanensis* P. Hennings⁵⁾ vollständig mit der *N. Balansae* Speg. überein. Anfangs

¹⁾ v. Höhnelt in Sitzungsber. d. Kais. Akademie d. Wissensch. Wien. 1912. Math.-naturw. Kl. Abt. I. p. 370.

²⁾ Monsunia. Bd. I. 1899. p. 64.

³⁾ Sydow in E. de Wildeman, Etudes sur la flore du Bas — et Moyen Congo. Tome 3. Fasc. I. 1909. pag. 14.

⁴⁾ Spegazzini, Fungi Argentini. Pugillus Bd. 4. (Anal. Soc. Cientif. Argentina 1881. p. 196).

⁵⁾ Hennings, P., Fungi von Madagaskar, den Comoren und Ostafrika (Voeletz-kow, Reise nach Ostafrika in den Jahren 1903—1905. Stuttgart 1908. p. 28. Taf. 3. Fig. 20.)

glaubte ich, daß sich in den Sporen ein deutlicher Unterschied zeige, doch jetzt, nachdem ich weiß, wie die Größe der Sporen von *N. Balansae* wechselt, ist es mir ohne Zweifel, daß *N. sakanensis* mit *N. Balansae* zusammenfällt, bzw. wenigstens in deren Formenkreis gehört. Neben den achtsporigen Asci, die 14—18 μ lange, 5—6 μ breite Sporen enthalten, kommen auch solche vor, die vier ungefähr 25 μ lange und 8½ μ breite, vierzellig erscheinende Sporen aufweisen. Wir finden hier also dieselben Verhältnisse wie bei *N. Balansae* Speg. In Wirklichkeit dürften aber die großen Sporen nicht vierzellig sein und die zwei weiteren Querwände dürften bloß vorge-täuscht werden. Eine Streifung der Sporen ist nicht sicher zu konstatieren.

Mit *N. sakanensis* P. Henn. fällt *N. Cainitonis* P. Henn.¹⁾ wieder vollständig zusammen. Bei letztgenannter Art zeigt sich aber eine ganz geringe Andeutung einer Längsstreifung. Da das 1. Heft des III. Bandes vom Voeltzkowschen Reisewerk nach Auskunft des Verlegers am 18. Juli 1908 erschienen ist und *N. Cainitonis* P. H. aber erst im September desselben Jahres publiziert wurde, so hatte *N. sakanensis* die Priorität gegenüber *N. Cainitonis* P. H. Doch ist diese Frage belanglos, da ja auch *N. sakanensis* als selbständige Art nicht aufrecht erhalten werden kann.

In den Formenkreis der *Nectria Balansae* Speg. (1883) wären also folgende Arten zu rechnen:

Nectria subfurfurea P. Henn. et E. Nym. (1899).

Nectria sakanensis P. Henn. (1908).

Nectria Cainitonis P. Henn. (1908).

Nectria congensis Syd. (1909).

16. *Nectria Punctum* Boudier (1881).

Boudier²⁾ hat uns von diesem Pilz eine ausgezeichnete, farbige Abbildung gegeben. Und auf Grund dieser Abbildung kann man ohne weiteres aussagen, daß *Nectria Punctum* Boudier³⁾ unmöglich in die Gattung *Nectria* gehört, da sie ein schwarzes Myzelium besitzt. Bei einer echten *Nectria* kommt ein derartiges Myzelium nie vor.

Die *Nectria Punctum* Boudier, die von Boudier auf Blättern einer *Jungermannia* bei Montmorency (Frankreich) gesammelt wurde, gehört in die Gattung *Coleroa* und ist mit *Coleroa bryophila* (Fuckel) Winter⁴⁾ vollständig identisch.

Boudier gibt die Größe der Sporen von *N. Punctum* mit 15—25 μ = 6—8 μ an und Winter die der *Coleroa bryophila* nur mit 15 μ = 6½—7½ μ an; doch zeigten die noch nicht ganz reifen Fuckelschen Originalexemplare (Fuckel, Fung. rhenan. No. 2519) bei meiner Untersuchung schon größere Sporen als sie Winter angibt. Für mich ist es daher fast ohne Zweifel, daß *Nectria Punctum* Boud. von *Coleroa bryophila* nicht verschieden ist und als selbständiger Pilz gestrichen werden muß.

¹⁾ Hennings in Hedwigia. 1908. p. 104. Dieser Pilz wurde von Baker in Para (Brasilien) 1908 gefunden.

²⁾ Boudier, Icones mycol., No. 243. T. 3. pl. 581.

³⁾ Boudier in Bulletin de la Société botanique de France. 1881. p. 98. Tab. 2. Fig. 9; Saccardo, Syll. Bd. 2. p. 506.

⁴⁾ Fuckel, Symbolae Mycologicae, Nachtrag 2. p. 19 sub *Stigmatæa*; sub *Coleroa* i. Winter, Pilze II., p. 201.

Herzlichen Dank sage ich zum Schluß meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Hofrat Professor Dr. Franz Ritter von Höhnelt für die Überlassung seines reichhaltigen Herbariums für meine Studienzwecke. Ebenso danke ich den Herren Wilh. Kirschstein, Direktor Prof. Dr. Lindman (Stockholm), Dr. Heinrich Rehm (München), Prof. Dr. P. A. Saccardo (Padua), H. Sydow (Berlin) und Abbé Vouaux (Jarville) für die Übersendung von Untersuchungsmaterial.

Nachdruck verboten.

Über bakterizide Stoffe in gesunden und kranken Pflanzen.

1. Mitteilung: Die gesunde Pflanze.

[Aus dem Institut für landwirtschaftliche Pflanzenproduktionslehre und der Versuchswirtschaft der k. k. Hochschule für Bodenkultur in Wien.]

Von R. J. Wagner, Wien.

Mit 5 Figuren.

Bei der Untersuchung einer durch einen *Mesentericus*-Stamm verursachten Bakteriose von *Solanum tuberosum*-Knollen fiel es mir auf, daß der Preßsaft schwach infizierter Knollen im hängenden Tropfen nicht nur keinen Nährboden für die spezifischen Bakterien lieferte, sondern sie agglutinierte, viele sogar auflöste.

Dreierlei konnte zur Erklärung dieses Phänomens herangezogen werden:

1. die gesunde Knolle enthält ein bakterizides Agens;
2. durch die Endo- resp. Exotoxine des phytopathogenen *Bacillus* wird chemotaktisch ein antibakterieller oder antitoxischer Zellstoff gebildet;
3. die Stoffwechselprodukte der Bakterien diffundieren in alle Schichten der Knolle und lösen die wachstumshemmende Wirkung des Zellsaftes aus, oder sind vielleicht selbst Ursache der Bakterizität derselben¹⁾.

1. Die natürliche Immunität der Pflanzen.

Zur Erforschung der natürlichen Immunität der Pflanzen gegen Infektion mit Bakterien war es notwendig, einige Bakterienarten als Standardtypen zu wählen. Da nun die beschriebenen phytopathogenen Bakterien in morphologischer und physiologischer Hinsicht noch zu wenig erforscht sind, um die damit erarbeiteten Resultate verallgemeinern zu können, so wählte ich:

1. *Bacillus vulgatus* (Flügge) Migula, aus Kartoffel isoliert. Auxanogrammetrisch wurden 2 Stämme isoliert, welche die rohe Kartoffelknolle in Zersetzung übergehen ließen (Versuchstemp. 37°);
2. *Bacterium putidum* (Flügge) Lehm. u. Neum., etwa der Varietät *Bacterium fluorescens aureus* Zimmerm. entsprechend. Die Isolierung geschah nach Beijerincks Vorschrift aus Erde;
3. *Bacillus asterosporus* (A. Meyer) Migula, nach Brede-mann aus Erde isoliert, vergärt Pektin.

Zwei aus Erde isolierte Stämme von *Bacillus subtilis* und *Bacterium coli* ergaben trotz wiederholter Knollenpassage sowohl auxanogrammetrisch, als auch bei Injektionsversuchen keine Phytopathogenität, mußten daher von den weiteren Versuchen ausgeschaltet werden.

¹⁾ Rahn, Über den Einfluß der Stoffwechselprodukte auf das Wachstum der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 16. 1906. p. 417.)

Im Einklange mit J. Schuster¹⁾ und van Hall²⁾ konstatierte ich, daß die Phytopathogenität der Bakterien durch Züchten bei 37° erhöht wird³⁾.

Ferner konnte ich finden, daß hochvirulente *Bac. vulgaris*-(*Mesentericus*)-Stämme bei Weiterzüchtung auf Zuckeragar, Erbsenagar, Zucker- und Stärkebouillon⁴⁾ nur wenig von ihrer Virulenz einbüßen, zumal wenn man sie wenigstens einmal wöchentlich überimpft.

Als Versuchspflanzen wählte ich:

Knollen von *Solanum tuberosum*, die sowohl ruhend als auch keimend geimpft wurden. Als Injektionsstellen wurden die Insertionsstelle des Stolo, an dem die Knolle saß, und die Blattknospen (Augen) gewählt⁵⁾.

Sempervivum Hausmannii, das in die Blätter als auch in die Wurzel injiziert wurde.

Beta vulgaris Vilmorin (Zuckerrübe), die analog dem *Sempervivum* behandelt wurde.

Vor der Injektion, die mit einer Pravatzschen Spritze von ½ ccm Fassungsraum, in cmm geteilt, mit Metallstempel, ausgeführt wurde, reinigte ich die Injektionsstellen und ihre Umgebung gründlichst mit Seifenwasser, ließ die Knollen ½ Stunde in 2°/∞ Sublimat liegen, *Sempervivum* und *Beta vulgaris* hingegen wurden mit 2 Proz. Wasserstoffsuperoxyd abgetropft. Dann wurde mit sterilem Wasser tüchtig abgespült, mit alkoholgetränktem Wattebausch rasch abgetrocknet, injiziert, mit dem alkoholgetränkten Wattebausch leicht abgetupft und die Injektionsstelle einige Male mit eingedicktem Kollodium überdeckt, um Luftinfektion und Luftschädigung auszuschließen.

A. Vergleich der Virulenz der Standardbakterien.

Je eine Öse einer virulenten Kultur wurde in 10 ccm sterilem Wasser verteilt und davon den 3 Testpflanzen⁶⁾ in der oben angegebenen Weise unter strenger Asepsis der Spritze, Hände usw. injiziert.

Zugleich wurde von je 1 cmm der Bakteriensuspension eine Agarplatte bei 37° angelegt und die Zahl der Kolonien nach 3 Tagen festgestellt, um die mit verschiedenen Stämmen usw. erlangten Resultate vergleichen zu können.

1. Versuche mit *Bacillus vulgaris*.

Von dem auxanogrammetrisch isolierten *B. vulgaris*-Stamm a wurde nach dreimaliger Knollenpassage bei 22° eine Kultur auf D-Agar bei 22° 3 Tage angelegt: *Bac. vulgaris a*.

¹⁾ Schuster, J., Arb. a. d. Kaiserl. biol. Anst. f. Land- u. Forstw. Bd. 8. 1912. p. 451.)

²⁾ Van Hall, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 9. p. 381, 642.

³⁾ Vgl. auch Smith, E., Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 5. p. 98 u. Bd. 7. p. 88 u. 190.

⁴⁾ Auf je 50 ccm sterilisierte, kalte Bouillon 1 g reinster Kartoffelstärke, die man zuvor fein zerrieben und mit viel Äther in steriler Eprovette geschüttelt hat. Man läßt eine Stunde absitzen, pipettiert den Äther mit steriler Pipette ab und saugt sterile Luft durch die Eprovette und gibt nun die Stärke aseptisch zur Bouillon.

⁵⁾ Frank, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 5. p. 98 u. 194.

⁶⁾ Kornauth, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 19. 21. p. 804.

⁷⁾ Bemerkt sei, daß gleich schwere gesunde Kartoffelknollen der gleichen Sorte (mittlere späte Speisekartoffel), ferner *Sempervivum* und Rüben von gleichem Gewicht und Alter, die unserem Versuchsgarten entstammen und in Knopscher Nährlösung im Glashauss weitergezogen und dort injiziert wurden.

Versuch 1 mit *Bac. vulgaris* α .

Versuchspflanze war *Solanum tuberosum* ruhende Knolle, in den Stolo injiziert. Dauer des Versuches 4 Tage bei 22°. 1 cmm Bacillenemulsion entsprach 230 Kolonien nach 3 Tagen (37°).

No.	Injektion cmm	Bakterien- anzahl	Resultate
1	1	230	Vollständig ausgeheilte Knolle, keine lebenden Bakterien.
2	5	1100	" " " " " "
3	10	2300	" " " " " "
4	15	3400	" " " " " "
5	20	4700	" " " " " "
6	25	5700	" " " " " "
7	30	6900	Knolle schwach infiltriert, keine lebenden Bakterien.
8	35	8000	Deutliche Erweichung des mittleren Knollenteiles, lebende Bakterien.

Sempervivum wurde erst bei 10 000 Bakterien, in 8×1 cmm verteilt injiziert, in 3 Tagen krank, gleichgültig, ob in die Blätter oder in die Wurzel geimpft wurde.

Beta vulgaris blieb selbst bei 20 000 Bakterien, in 16×1 cmm verteilt injiziert, sowohl bei Infektion der Wurzel, als auch der Blattstiele vollkommen gesund.

Von demselben Stamm *B. vulgaris* α wurde nach 3maliger Knollenpassage bei 37° eine Kultur auf Agar bei 37° angelegt: *B. vulgaris* β .

Versuch 2 mit *Bac. vulgaris* β .

Bac. vulgaris β in den Stolo der ruhenden Knolle injiziert. 1 cmm der Bacillenemulsion entsprach 380 Kolonien. Dauer des Versuches 4 Tage bei Zimmertemperatur.

No.	Injektion cmm	Bakterien- anzahl	Resultat
1	3	1100	Ausgeheilte Knolle, keine lebenden Bakterien.
2	5	1900	" " " " " "
3	8	3000	Schwache Infiltration, keine lebenden Bakterien.
4	10	4000	Deutliche Infiltration, viele lebende Bakterien.
5	15	5700	Naßfaule Knolle.

Versuch 3 mit *Bac. vulgaris* β .

Bac. vulgaris β in die Blattknospen (Augen) der ruhenden Knolle injiziert. 1 cmm Bacillenemulsion entsprach 380 Kolonien. Dauer des Versuches 4 Tage bei 22°.

No.	Injektion cmm	Bakterien- anzahl	Resultat
1	3	1100	Knolle ausgeheilt, keine lebenden Bakterien.
2	5	1900	" " " " " "
3	8	3000	Schwache Infiltration, keine lebenden Bakterien.
4	10	4000	Deutliche Infiltration, wenig lebende Bakterien.
5	15	5700	" " lebende Bakterien.

Diese beiden Versuchsreihen zeigten schon eine bedeutende Erhöhung der Virulenz des *Bacillus*. Nun wurde versucht, durch Züchten desselben *Bacillus* auf Dextroseagar und Dextrosebouillon bei 37° eine weitere Virulenz-erhöhung zu erzielen. Es gelang mir insofern, als diese Kultur: *Bac. vulgaris* γ , in den Stolo der ruhenden Knolle injiziert, bei Zimmertemperatur schon bei 2800 Bakterien deutliche Infiltration mit lebenden Bakterien in 4 Tagen ergab.

Viel bessere Resultate ergaben aber die Versuche mit einer Kultur desselben Stammes nach dreimaliger Knollenpassage bei 37°, die auf Stärkeagar und Stärkebouillon angelegt und bei 37° gezüchtet wurde. Überimpfen nach je 3—4 Tagen hielt die Virulenz konstant. Die Kultur wurde *Bac. vulgaris* δ signiert.

Versuch 4 mit *Bac. vulgaris* δ .

Bac. vulgaris δ in den Stolo der Knolle injiziert. 1 cmm der Bacillenemulsion gab 140 Kolonien nach 3 Tagen. Dauer des Versuches 4 Tage bei 22°.

No.	In- jektion cmm	Bakterien- anzahl	Resultat
1	4	560	Schwache Infiltration, keine lebenden Bakterien
2	10	1400	Deutliche Infiltration, lebende Bakterien
3	15	2000	Starke Infiltration, „ „
4	25	3500	Zerfall der Knollen, „ „
5	35	5000	„ „ „ „ „

Versuch 5 mit *Bac. vulgaris* δ .

Bac. vulgaris δ in die Blattknospen der Knolle injiziert. 1 cmm der Bacillenemulsion entsprach 140 Kolonien auf der Platte bei 37°. Dauer des Versuches 4 Tage bei 22°. Siehe die Reproduktion.

No.	No. der Ab- bildung	In- jektion cmm	Bakterien- anzahl	Resultat
1	2	4	560	Glatt ausgeheilt, keine lebenden Bakterien
2	3	10	1400	Schwache Infiltration, keine lebenden Bakterien:
3	4	15	2000	Deutliche Infiltration, lebende Bakterien
4	5	25	3500	Starke Infiltration, „ „
5	1	35	5000	Zerfall der Knolle.

An den Reihen 4 und 5 ist der Virulenzgrad der Kultur δ als zwischen 560 und 1400 Bakterien, wenn in den zentripetalen Säftestrom, bzw. zwischen 1400 und 2000 Bakterien, wenn in den zentrifugalen Säftestrom der Kartoffelknolle injiziert wurde. Die Kultur erwies sich auch gegen *Sempervivum* und Rube als pathogen. Die Pflanzen erkrankten sowohl, wenn man in die Wurzel, als auch in die Blattstiele injiziert, an Verfärbung und Verwelken der Blätter; die Wurzel erweicht und die Pflanze geht zugrunde. *Bac. vulgaris* δ tötet *Sempervivum* bei 2500 Bakterien in 5 mal 1 cmm injiziert, innerhalb 3 Tagen, *Beta vulgaris* bei 4000 Bakterien in einer Woche. Da die Virulenz der Kultur innerhalb von 3 Wochen bei gleichen Kulturbedingungen konstant blieb, so wurden die weiteren Versuche mit dieser Kultur gemacht.

2. Versuche mit *Bact. putidum*.

Da diese und die folgenden Versuche in analoger Weise ausgeführt wurden, genügt es, das erreichte Virulenzmaximum an den drei Versuchspflanzen

tabellarisch zu erläutern. Die Höchstvirulenz von *Bact. putidum* wurde nach dreimaliger Knollenpassage und weiterzüchten auf Dextroseagar bei 37° erreicht. Stärkeagar und Stärkebouillon gab weniger befriedigende Resultate.

Versuch 6 mit *Bact. putidum*.

Bact. putidum in die Augen der Knolle injiziert. 1 cmm Bakteriemulsion entsprach ca. 200 Kolonien auf der Platte nach drei Tagen (37°) Dauer des Versuches 4 Tage bei 22°.

No.	Injektion cmm	Bakterienanzahl	Resultat
1	3	600	Glatt ausgeheilt, keine lebenden Bakterien
2	5	1000	" " " " "
3	10	2000	" " " " "
4	15	3000	Schwache Infiltration, lebende Bakterien
5	20	4000	" " " " "
6	25	5000	Deutliche " vermehrte Bakterien.

Sempervivum wurde von 5000 Bakt. in 8 Tagen getötet.

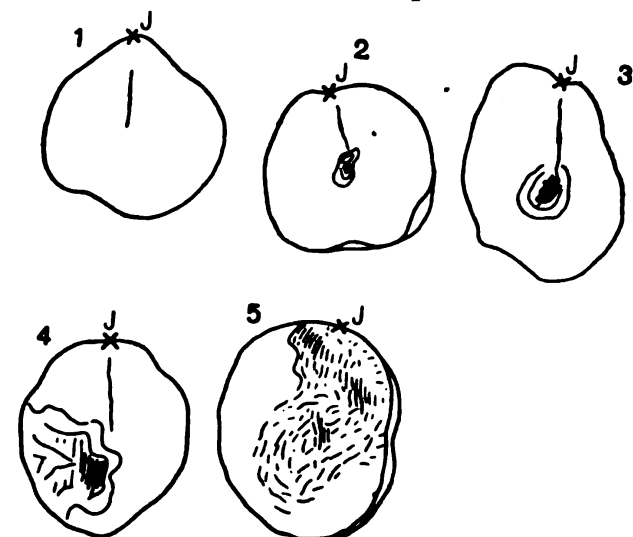
Beta vulgaris von 7000 Bakterien krank, heilte jedoch wieder aus.

3. Versuche mit *Bacillus asterosporus*.

Von den von mir isolierten drei Stämmen erwies sich nur Stamm β , gekennzeichnet durch sein Pektinvergärungsvermögen in der lebenden Pflanze, als pflanzenpathogen, jedoch auch nur in geringem Grade.

Erst bei rund 10 000 Bakterien wurde die gesunde Knolle angegriffen und da nur in geringem Grade. (Injektion in den Stolo.)

Knollen, die mit *Phytophthora infestans* infiziert waren, gingen jedoch schon bei 6000 Bakterien an allgemeiner Erweichung zugrunde.



J = Injektionsstelle. Nach einer Photographie des Verf. gezeichnet.

Obligate Bakterienfäule der Knollen konnte ich nicht erreichen.

Sempervivum u. Rübe sind gegen *Bac. asterosporus* β immun.

Ebenso, wie bei *Bacillus asterosporus* β , führt Infektion von *Phytophthora*-erkrankten Knollen mit *Bacillus subtilis* und *Bacterium coli* zu allgemeiner Sepsis und jauchigem Zerfall derselben. Bei *Sempervivum* und Rübe konnte ich keine Infektion mit diesen beiden Bakterien erreichen.

B. Versuche in vitro.

In allen diesen Fällen ist also die gesunde Pflanze imstande, sich durch biologische Prozesse einer gewissen Bakterienmenge zu erwehren, die verschie-

den ist nach der Pflanzenart, der Bakterienart und ihrer Phytovirulenz.

Nun wurde versucht, *in vitro* eine bakterizide Wirkung des normalen Zellsaftes nachzuweisen.

1. Der Zellsaft der gesunden Kartoffel.

Vollständig gesunde Knollen wurden gereinigt, mit 2 ‰ Sublimat (mit gleichem Endresultat auch mit 2 Proz. H_2O_2) desinfiziert, in sterilem Wasser gewaschen, mit steriler Watte getrocknet und unter aseptischen Kautelen in dem Preßzylinder der hydraulischen Presse zerquetscht.

Der gewonnene Preßsaft wurde in die Silberschmidtsche Kerze eines Serumfiltrierapparates nach Maaßen übertragen und bei 40 mm Druck filtriert. Der filtrierte Preßsaft wurde sowohl gleich verwendet, als auch im Vakuum im Dunkeln aufbewahrt. Gelbliche Flüssigkeit, von minimal saurer Reaktion. Die Standardbakterien wachsen in Bouillon von gleichem Säuregrad. (Kolorimetrisch bestimmt.)

1. Sogleich nach der Gewinnung wurde je eine Öse Preßsaft mit $\frac{1}{100}$ Öse der 3 Tage alten Agar, resp. D-Agar und Stärkeagarkultur (37°) im hängenden Tropfen vermischt. Sodann wurden die signierten Objektträger sowohl bei gewöhnlicher Temperatur (22°) als auch bei 37° eine halbe Stunde ruhen gelassen und dann bei 60-facher und 400-facher Vergrößerung bei enger Blende untersucht.

Bacillus vulgatus α .

Bei gewöhnlicher Temperatur haben viele Bakterien gequollene Membranen, liegen in Häufchen beisammen. Eine davon angelegte Platte ergab nach einem Tag 146 Kolonien, nach dem zweiten Tag weitere 28 Kolonien, während die Kontrollplatte überdicht war.

Bei 37° gleicher Befund, nur bedeutend mehr lebende Bacillen.

Bacillus vulgatus δ .

Sowohl bei 37° , als auch bei gewöhnlicher Temperatur bewegen sich fast alle Bacillen, die Platte ergab gleichen Befund wie die Kontrollplatte.

Bacterium putidum.

Bei gewöhnlicher Temperatur wurden fast alle Bakterien agglutiniert. Man sah viele in Auflösung begriffene Formen. Die Platte enthält nur wenig Kolonien (63), während die Kontrollplatte dicht besät ist.

Bei 37° bleiben bedeutend mehr Bakterien am Leben, keine Bewegung, vollständige Agglutination. Platte enthält 97—100 Kolonien.

Bacillus asterosporus β .

Bei Zimmertemperatur werden alle Bacillen agglutiniert, keine Bewegung. Die Sporen werden mitgerissen. Viele lytische Formen sind wahrzunehmen. Die Platte bleibt leer, erst nach dem 3. Tag sind 132 Kolonien zu zählen (Sporen).

Bei 37° ebenfalls vollständige Agglutination, keine Bewegung. Viele lytische Formen. Die Platte enthält nach 1 Tag 36 Kolonien, nach weiteren 2 Tagen ca. 200 Kolonien.

Nach einigen Stunden färbt sich der Preßsaft selbst im evakuierten Gefäß braun und wird unwirksam. Oftmals bildet sich ein braunes, sowohl in Wasser als auch in NaCl-Lösung unlösliches Koagulum, das in Säuren und Basen löslich ist und die typischen Proteinreaktionen gibt. (Biuretreaktion, Niederschlag mit Ferrozyankalium und Xantoproteinreaktion.)

Es kam auch vor, daß der Preßsaft schon während der Gewinnung unwirksam und braun wurde.

2. Der Zellsaft von *Sempervivum Hausmannii*.

Eine ganze Pflanze wurde mit 2 Proz. Wasserstoffsuperoxyd nach vorhergehender Reinigung desinfiziert und gepreßt. Nach der Filtration durch das Berkelandfilter wurde auf Bakterizität untersucht. Farblose Flüssigkeit, schwach sauer. Bei 37° (für den Preßsaft minder günstige Temperatur):

1. *Bac. vulgaris* α. Fast vollständig agglutiniert, lytische Formen, wenig bewegte Bacillensporen. Platte erst nach 3 Tagen ca. 40 Kolonien.

2. *Bac. vulgaris* δ. Deutliche Agglutination, lytische Formen, einige bewegte Bacillen. Die Platte enthält etwa 250 Kolonien nach einem Tag, später dicht.

3. *Bact. putidum*. Vollständig agglutiniert, lytische und gequollene Formen. Die Platte zeigt nur 25—28 Kolonien.

4. *Bac. asterosporus* β. Befund wie ad 3, erst nach drei Tagen zeigt die Platte wenige Kolonien.

Der *Sempervivum* Preßsaft behält seine bakterizide Wirkung ca. 3 Tage, wenn er steril ist, sonst wird durch Pilzvegetation das bakterizide Prinzip desselben zerstört.

3. Der Zellsaft der Rübe.

Es gelang mir nicht, aus der Rübe einen bakteriziden Preßsaft zu gewinnen. Die trotzdem hohe Bakterienfestigkeit dürfte auf andere Ursachen zurückzuführen sein.

C. Die relative Isolierung der wachstumshindernden Prinzipien des Preßsaftes.

Um eine relative Isolierung der Antistoffe der Pflanzen zu erreichen, wurde von dem nach p. 618 gewonnenen Preßsaft nach Isolierung von Eiweiß und Zucker jeder Teil auf seine bakterizide Wirkung geprüft. Nur dem Eiweiß konnten antibakterielle Eigenschaften zugesprochen werden. Durch die Fällung desselben mit Ammoniumsulfat wird also das aktive Moment des Preßsaftes mitgefällt.

Um einen Vergleich der wachstumshindernden Wirkung der isolierten Proteide mit den Proteiden des Preßsaftes, der eventuellen Mitwirkung von Stärke und Zucker und der Wirkung von 2 Stunden auf 45° erhitzten Lösungen machen zu können, wurden folgende Versuchsreihen angesetzt:

1. Mit isoliertem Eiweiß.

½ kg Kartoffelknollen wurden mit Seifenwasser gereinigt, mit Wasserstoffsuperoxyd desinfiziert, dann der Preßsaft gewonnen. Ausbeute: 260 ccm. Der Preßsaft wurde mit $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ bis zur Sättigung versetzt und die Flüssigkeit von den ausgeschiedenen Proteiden und Fermenten abfiltriert. Dann wurde der Nschl. mit $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Lösung, um die letzten Zuckerreste zu entfernen, dann mit H_2O kurz gewaschen, um den $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -haltigen Niederschlag von diesem zu befreien und in 250 ccm sterilem H_2O aufgenommen. Zur Entfernung von eventuellen Luftkeimen wurde durch das Berkelandfilter filtriert. Die Lösung wurde steril in Eproutetten abgefüllt (je 3 ccm), ein Teil der Röhrchen wurde mit 1 Tropfen (1 mg) Dextrose, ein zweiter mit 2 mg Stärke (mit Äther desinfiziert), ein dritter mit 1 mg Dextrose und 2 mg Stärke versetzt. Versuchstemperatur 35°. Tab. I.

Tab. I. Versuche mit dem isolierten Proteiden der Kartoffel.

No.	Eiweiß	Zucker	Stärke	Beimpfung	2-stünd. auf 45° erhitzt	1 Tag	2 Tage	3 Tage	4 Tage	5 Tage	6 Tage	Anmerkung
1	1	—	—	vulgatus δ	—	—	—	—	—	schw. Wachst.	schw. Wachst.	kein Wachstum kein Wachstum bleibt klar
2	1	—	—	asterosp. β	—	—	—	—	—	—	—	
3	1	—	—	putidum	—	—	—	—	—	—	—	
4	1	—	—	Kontrolle	—	—	—	—	—	—	—	
5	1	—	—	vulgatus δ	1	schw. Wachst. do.	schw. Wachst. do.	schw. Wachst. do.	schw. Wachst. do.	schw. Wachst. do.	schw. Wachst. do.	schwache Sedimentierung Wachstum diffus
6	1	—	—	putidum	1	do.	do.	do.	do.	do.	do.	
7	1	—	—	asterosp. β	1	—	—	—	—	—	—	
8	1	—	—	Kontrolle	1	—	—	—	—	—	—	
9	1	1	—	vulgatus δ	—	—	—	—	schw. Wachst. do.	schw. Wachst. do.	schw. Wachst. do.	Wachstum von der Ober- fläche nach unten
10	1	1	—	asterosp. β	—	—	—	—	schw. Wachst. do.	schw. Wachst. do.	schw. Wachst. do.	
11	1	1	—	putidum	—	—	—	—	schw. Wachst. do.	schw. Wachst. do.	schw. Wachst. do.	
12	1	1	—	Kontrolle	—	—	—	—	—	—	—	bleibt klar
13	1	1	—	vulgatus δ	1	schw. Wachst. do.	schw. Wachst. do.	schw. Wachst. do.	mittleres Wachst. schw.	mittleres Wachst. schw.	mittleres Wachst. schw.	Wachstum homogen schwach Sediment
14	1	1	—	asterosp. β	1	do.	do.	do.	mittleres Wachst. mittleres Wachst.	mittleres Wachst. mittleres Wachst.	mittleres Wachst. mittleres Wachst.	
15	1	1	—	putidum	1	—	—	—	mittleres Wachst. schw.	mittleres Wachst. schw.	mittleres Wachst. schw.	
16	1	1	—	Kontrolle	1	—	—	—	mittleres Wachst. mittleres Wachst.	mittleres Wachst. mittleres Wachst.	mittleres Wachst. mittleres Wachst.	
17	1	—	1	vulgatus δ	—	—	—	—	schw. Wachst. do.	schw. Wachst. do.	schw. Wachst. do.	Wachstum von Oberfläche nach unten
18	1	—	1	asterosp. β	—	—	—	—	schw. Wachst. do.	schw. Wachst. do.	schw. Wachst. do.	
19	1	—	1	putidum	—	—	—	—	schw. Wachst. do.	schw. Wachst. do.	schw. Wachst. do.	
20	1	—	1	Kontrolle	—	—	—	—	schw. Wachst. do.	schw. Wachst. do.	schw. Wachst. do.	
21	1	—	1	vulgatus δ	1	schw. Wachst. do.	schw. Wachst. do.	schw. Wachst. do.	mittleres Wachst. schw.	mittleres Wachst. schw.	mittleres Wachst. schw.	bleibt klar
22	1	—	1	asterosp. β	1	—	do.	do.	mittleres Wachst. mittleres Wachst.	mittleres Wachst. mittleres Wachst.	mittleres Wachst. mittleres Wachst.	Wachstum diffus auf der Bürke schwach Sediment
23	1	—	1	putidum	1	schw. Wachst. do.	schw. Wachst. do.	schw. Wachst. do.	mittleres Wachst. mittleres Wachst.	mittleres Wachst. mittleres Wachst.	mittleres Wachst. mittleres Wachst.	
24	1	—	1	Kontrolle	1	—	—	—	mittleres Wachst. mittleres Wachst.	mittleres Wachst. mittleres Wachst.	mittleres Wachst. mittleres Wachst.	

25	1	1	1	1	vulgatus δ	—	—	—	—	schw. Wachst. do.	schw. Wachst. do.	Wachstum von der Oberfläche nach unten bleibt klar
26	1	1	1	1	asterosp. β	—	—	—	—	schw. Wachst. do.	schw. Wachst. do.	—
27	1	1	1	1	putidum	—	—	—	—	schw. Wachst. do.	schw. Wachst. do.	—
28	1	1	1	1	Kontrolle	—	—	—	—	—	—	—
29	1	1	1	1	vulgatus δ	1	schw. Wachst.	schw. Wachst. do.	mittleres Wachst. schw. Wachst. do.	mittleres Wachst. do.	starkes Wachst. mittleres Wachst. do.	Wachstum auf der Fläche des Sediments
30	1	1	1	1	asterosp. β	1	—	—	—	—	—	—
31	1	1	1	1	putidum	1	schw. Wachst.	do.	—	—	—	—
32	1	1	1	1	Kontrolle	1	—	—	—	—	—	—

Tabelle II

No.	Preßsaft	Stärke	Beimpfung	2-stünd. auf 45° erhitzt	1 Tag	2 Tage	3 Tage	4 Tage	5 Tage	6 Tage	Anmerkung
1	1	—	vulgatus δ	—	—	schw. Wachst.	schw. Wachst. do.	mittleres Wachst. schw. Wachst.	starkes Wachst.	starkes Wachst.	Wachstum beginnt an der Oberfläche
2	1	—	asterosp. β	—	—	—	—	—	—	—	—
3	1	—	putidum	—	—	s. schw. Wachst.	s. schw. Wachst.	mittleres Wachst.	mittleres Wachst.	mittleres Wachst.	—
4	1	—	Kontrolle	—	—	—	—	—	—	—	—
5	1	—	vulgatus δ	1	schw. W.	schw. Wachst.	s. schw. Wachst.	normale schöne Kultur	mittleres Wachst.	mittleres Wachst.	Wachstum beginnt an der Oberfläche
6	1	—	asterosp. β	1	—	—	—	—	—	—	—
7	1	—	putidum	1	—	schw. W.	schw. Wachst.	normale Kultur	mittleres Wachst.	mittleres Wachst.	—
8	1	—	Kontrolle	1	—	—	—	—	—	—	—
9	1	1	vulgatus δ	—	—	schw. W.	schw. Wachst.	normale Kultur	mittleres Wachst.	mittleres Wachst.	Wachstum beginnt an der Oberfläche
10	1	1	asterosp. β	—	—	—	—	—	—	—	—
11	1	1	putidum	—	—	schw. Wachst.	schw. Wachst.	normale Kultur	mittleres Wachst.	mittleres Wachst.	—
12	1	1	Kontrolle	—	—	—	—	—	—	—	—
13	1	1	vulgatus δ	1	schw. Wachst.	schw. Wachst.	schw. Wachst.	normale Kultur	mittleres Wachst.	mittleres Wachst.	Wachstum beginnt an der Oberfläche
14	1	1	asterosp. β	1	—	s. schw. Wachst.	s. schw. Wachst.	normale Kultur	normale Kultur	normale Kultur	—
15	1	1	putidum	1	—	schw. W.	schw. Wachst.	normale Kultur	normale Kultur	normale Kultur	—
16	1	1	Kontrolle	1	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle III.

No.	Bouillon Preßsaft	CuSO ₄ Ver- dünnung	Beimpfung	Auf 45° erhitzt	1 Tag	2 Tage	3 Tage	4 Tage	5 Tage	6 Tage	Anmerkung
1	Bouillon	1	Bacillus vulgatus δ	—	wenig Wachst.	wenig Wachst.	wenig Wachst.	wenig Wachst.	wenig Wachst.	wenig Wachst.	
2	"	2	do.	—	gutes Wachst.	gutes Wachst.	gutes Wachst.	gutes Wachst.	gutes Wachst.	gutes Wachst.	
3	"	3	do.	—	normales Wachst.	normales Wachst.	normales Wachst.	normales Wachst.	normales Wachst.	normales Wachst.	
4	"	4	do.	—	do.	do.	do.	do.	do.	do.	
5	"	0	do.	—	do.	do.	do.	do.	do.	do.	
6	Preßsaft	1	do.	—	kein Wachst.	kein Wachst.	kein Wachst.	kein Wachst.	kein Wachst.	kein Wachst.	Schwach- es Sediment, Wachstum von der Ober- fläche nach unten.
7	"	2	do.	—	do.	do.	do.	do.	do.	do.	
8	"	3	do.	—	do.	do.	do.	do.	do.	do.	
9	"	4	do.	—	do.	do.	do.	do.	do.	do.	
10	"	0	do.	—	do.	schw. Wachst.	schw. Wachst.	mittleres Wachst.	üppiges Wachst.	üppiges Wachst.	Sediment, Beginn des Wachstums diffus.
11	"	1	do.	1	—	wenig Wachst.	wenig Wachst.	wenig Wachst.	wenig Wachst.	wenig Wachst.	
12	"	2	do.	1	—	schw. Wachst.	schw. Wachst.	mittleres Wachst.	mittleres Wachst.	normales Wachst.	
13	"	3	do.	1	—	normales Wachst.	normales Wachst.	normales Wachst.	normales Wachst.	normales Wachst.	
14	"	4	do.	1	normales Wachst.	do.	do.	do.	do.	do.	
15	"	0	do.	1	do.	do.	do.	do.	do.	do.	

R. J. Wagner,

Aus dieser Versuchsreihe erkennt man ganz deutlich, daß:

1. dem Eiweiß die bakterizide Wirkung zugesprochen werden muß, bzw. daß die bakteriziden Stoffe in der Eiweißpräzipitation enthalten sind;
2. zweistündiges Erhitzen auf 45° zerstört das bakterizide Prinzip;
3. die bakterizide Wirkung nach 3—4 Tagen erlischt. (Im Dunkeln.)
4. Ein Zucker, resp. Stärkegehalt fördert das Wachstum der resistenteren Keime, bzw. Sporen.

Nun wurde eine Versuchsreihe mit **filtriertem Preßsaft** begonnen, der ja außer Eiweißstoffen noch Fermente, Zucker und anorganische Nährsalze enthält. Zu einer Fraktion wurde Stärke, in obiger Weise sterilisiert, dazugegeben. Tab. II.

Der schädigende Einfluß der enzymatischen Stoffe auf das bakterizide Moment tritt an dieser Reihe klar hervor. Innerhalb von zwei Tagen ist der Preßsaft für pflanzenpathogene Bakterien als Nährboden verwendbar.

Da ich mehrmals in der Lage war, beim Ausglühen der Platinnadeln nach einem Kontakt mit dem Preßsaft aus den infiltrierten Stellen der injizierten Kartoffelknollen Kupfer spektroskopisch nachzuweisen, so untersuchte ich den Einfluß minimaler, sonst das Bakterienwachstum nicht mehr hemmender Cn-Mengen auf das wachstumshindernde Moment des Preßsaftes aus gesunden Knollen.

Folgende Konzentrationen von CuSO_4 wurden verwendet:

- | | |
|---|---|
| 1. $\frac{1}{1000}$ mol. | 0,32 mg $\text{CuSO}_4 + 4 \text{H}_2\text{O}$ pro ccm |
| 2. $\frac{1}{10\ 000}$ mol. | 0,032 mg $\text{CuSO}_4 + 4 \text{H}_2\text{O}$ pro ccm |
| 3. $\frac{1}{100\ 000}$ mol. | 0,0032 mg $\text{CuSO}_4 + 4 \text{H}_2\text{O}$ pro ccm |
| 4. $\frac{1}{1\ 000\ 000}$ mol. | 0,00032 mg $\text{CuSO}_4 + 4 \text{H}_2\text{O}$ pro ccm |

Von diesen Verdünnungen wurde je 1 ccm mit 3 ccm der Lösung gemischt. Tab. III.

Nach dieser Versuchsreihe wäre man geneigt, dem Kupfer eine Rolle im Chemismus der Bakterizität des Preßsaftes sowie der normalen Pflanze zuzuweisen.

Ähnliches zeigt **Laurent**¹⁾ für die Resistenz der Knollen gegen *Phytophthora infestans*.

D. Der Chemismus des bakteriziden Prinzipes des Preßsaftes.

a) Durch Fällen des Preßsaftes mit $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ und Filtration erhält man 2 Teile:

1. eine gelbe Flüssigkeit, die keinerlei bakterizide Eigenschaften aufweist und

2. den Proteínrückstand. Dieser ist der Träger des bakteriziden Prinzipes. Durch dessen Auflösung in Wasser oder 0,8 Proz. NaCl-Lösung kann man ein stärker wirkendes Agens erlangen, als der ursprüngliche Preßsaft war. Jedoch geht durch Berührung mit der Luft und durch die mitgefällten Fermente der Antistoff rasch zugrunde.

b) Durch Erhitzen auf 60° (15 Minuten) oder durch zweistündiges Erwärmen auf 45° wird der Preßsaft inaktiviert. Das sich bildende Coagulum zeigt auch in Wasser suspendiert, ebenso das Filtrat desselben, keinerlei Bakterizität.

c) Durch das diffuse Tageslicht wird der bakterizide Stoff in 2—60 Stunden vernichtet.

d) Die Oxydasen, resp. Peroxydasen zerstören in vitro das aktive Moment durch Fällung desselben, vielleicht auch durch Oxydation.

¹⁾ **Laurent**, E., De l'action interne du sulfate de cuivre dans la resistance de la pomme de terre au *Phytophthora infestans*. (Compt. rend. T. 12. 1902. p. 8.)

e) Die bakteriziden Stoffe der Pflanzen folgen dem Gesetz der konstanten Proportionen.

z. B. agglutiniert eine Öse Preßsaft von *Sempervivum* eine hunderstel Öse einer 3 Tage alten Kultur von *Bacterium putidum* vollständig, aber nicht mehr $\frac{2}{100}$ Ösen derselben Kultur. Zwei Ösen Preßsaft agglutinieren diese Bakterienkonzentration vollständig, usw.

Zusammenfassung.

In vitro wirken bei der gesunden Pflanze dreierlei antibakterielle Stoffe:

1. Agglutinine, resp. die Geißelbewegung hemmende.
2. Lysine, welche die Membran der Bakterien verquellen und diese lösen.
3. Wachstumshindernde Stoffe, welche verhindern, daß Sporen und durch dicke Membranen geschützte Bakterien auskeimen.
4. In der Pflanze kommt als begleitendes, vielleicht auch wirksames Moment eine Erhöhung der Azidität des Zellsaftes hinzu.

Diese Erscheinung könnte auch als Maß der vitalen Kraft des pflanzlichen Organismus dienen, da ich folgendes beobachten konnte:

Bei Injektion von Bakterienmengen, welche vom Organismus unschädlich gemacht werden können, ist die Azidität für kurze Zeit erhöht (3 Stunden bis 1 Tag). Diese Erscheinung tritt gewöhnlich 10—20 Stunden nach der Infektion auf (Inkubationszeit). Am dritten Tag ist wieder normale Reaktion nachzuweisen.

Durch ein von dem Verfasser ausgearbeitetes Verfahren kann man maßanalytisch den relativen und absoluten Wert der Azidität feststellen, ohne mehr als einen Tropfen Zellsaft aus der Pflanze zu entnehmen.

Graphisch läßt sich der Aziditätsanstieg, resp. -abfall zu einer Kurve verarbeiten, welche uns ein deutliches Bild der bakteriolytischen Kraft des kranken Organismus gibt. In der zweiten Mitteilung wird das Verfahren genau beschrieben werden.

Die Versuche des zweiten Teiles dieser Arbeit, die bis auf einige Kontrollreihen und Versuche mit *Solanum tuberosum* abgeschlossen sind, zeigen die Möglichkeit der aktiven und passiven Immunisierung von Pflanzen und das Vorhandensein von spezifischen Antitoxinen und bakteriziden Stoffen in denselben.

Die vorliegende Arbeit wurde im Institut des Herrn Hofrates Prof. Dr. v. Liebenberg unter Leitung von Herrn Prof. Dr. Kaserer ausgeführt.

Mein tiefgefühlter Dank sei der Ausdruck dafür, daß Sie mir die Ausführung dieser bescheidenen Arbeit ermöglichten.

Inhalt.

Original-Abhandlungen.

- Gorini, Costantino**, Die Ernährung des Milchviehs und die hygienische Produktion der Milch, p. 582.
Kelley, W. P., The Lime-Magnesia Ratio: II. The Effects of Calcium and Mag-

- nesium Carbonates on Nitrification, p. 577.
Wagner, R. J., Über bakterizide Stoffe in gesunden und kranken Pflanzen, p. 613.
Weese, Josef, Hypocreaeaceen - Studien, p. 587.

Abgeschlossen am 28. November 1914.

Über eine farblose, stark roten Farbstoff erzeugende *Torula*.

[Staats-Gärungslaboratorium Ettelbrück, Luxemburg.]

Von Dr. J. Grosbüsch.

Mit 8 Textfiguren.

Den Namen *Torula* besaßen ursprünglich die Hyphomyceten mit rosenkranzförmig angeordneten Konidien. C o h n gab ihn der kettenbildenden Bakteriengattung *Micrococcus*. Turpin benannte i. J. 1838 die Bierhefe „*Torula*“ *cerevisiae*¹⁾).

P a s t e u r verschaffte der unter dem Namen *Torula* bekannten Pilzgruppe in seinen epochemachenden „Études sur la bière“ eine klare Umgrenzung: Einzellige, eines typischen Mycels ermangelnde, nach Art der Bierhefe durch Sprossung sich vermehrende Mikroorganismen ohne Gärvermögen.

E. C h r. H a n s e n²⁾ engte die P a s t e u r s c h e *Torula* gruppe durch Einfügung des negativen Merkmals: Mangel endogener Sporenbildung, weiter ein, wodurch das von der Forschung auch den Torulaceen mittlerweile zuerkannte Gärvermögen deren Abgrenzung von den echten Saccharomyceten (Sporenbildner) nicht auszuschließen vermochte.

W i l l³⁾ unterscheidet innerhalb des Torulaceenformenkreises zwei Untergruppen; die erste nähert sich durch die ausschließlich rundliche bis ovale Form der Zellen, mit oder ohne Gärvermögen, den echten Saccharomyceten, von denen die fehlende Sporenbildung sie jedoch trennt; die zweite umschließt alle nicht sporulierenden Sproßpilze mit gemischten, auseinander hervorgehenden Zellformen, nähert sich also der Gattung *Myco derma*, von der sie das vorhandene Gärvermögen jedoch scheidet.

Die Torulaceen sind in der Natur sehr verbreitet. Sie finden sich im Erdboden (Überwinterungsstätte), im Haarkleid der überwinterten Bienen und Wespen, auf Früchten aller Art und haben in Wein- und Obstbau treibenden Gegenden ihre eigentliche Heimat. Sehr zahlreich treten sie auch in Brauereien, an feuchten Mauern, an Schläuchen, Rohrleitungen usw. auf.

Abgesehen von einigen besonderen Fällen, konnte eine weitergehende praktische Bedeutung der Torulaceengruppe im Haushalt der Natur bis heute noch nicht festgestellt werden. Gewisse Arten spielen eine hervorragende Rolle bei der Herstellung der englischen Biere. Zur Kefir-, Kumys- und Mazunbereitung (im Kaukasus, in Armenien und Rußland) sind sie zusammen mit bestimmten Bakterien unentbehrlich. Andere vermögen Milch, Käse und Butter mit einem unangenehmen Geschmack zu behaften.

Nach D e m m e⁴⁾ ruft eine in Käse und Milch auftretende Art Darmkatarrh bei Säuglingen hervor. Nach Untersuchungen von J ö r g e n s e n⁵⁾ können gewisse *Torula* formen als Krankheitshefen auftreten, indem sie in den schwach vergorenen obergärigen Bieren, wenn diese auf Flaschen abgezogen werden, sich stark vermehren und eine Trübung veranlassen. K r a m e r⁶⁾ berichtet über eine rotgefärbte, bei der Vergärung des Mostes mitwirkende *Torula*.

Der in den nachfolgenden Seiten näher beschriebene Organismus wurde von Apfelschalen isoliert.

¹⁾ Nach Will, Handbuch d. techn. Mykol. von L a f a r. Bd. 4. (Fungi imperfecti) 1906.

²⁾ Compt. rend. de Carlsberg. T. 4. 1898.

³⁾ Ibid. wie ¹⁾.

⁴⁾ D e m m e, Centralbl. f. Bakt. Bd. 9. 1890.

⁵⁾ J ö r g e n s e n, Die Mikroorganismen der Gärungsindustrie. 5. Aufl. 1908.

⁶⁾ K r a m e r, E., Österr. landw. Centralbl. 1891. Bd. 1; Referat nach Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 10.

Bei der Untersuchung wurden folgende Nährböden benutzt:

1. Gehopfte Bierwürze von 11° B.
2. Dextrosehefewasser (nach K o h l¹⁾).
3. Nährlösung B, eine im hiesigen Laboratorium zur Massenzüchtung von Reihenhfen seit Jahren mit Erfolg verwendete Nährflüssigkeit²⁾.
4. Milch (entrahmte und Vollmilch).
5. Trauben- und Apfelmast.
6. Gelatine mit Bierwürze (11° B).
7. „ „ Nährlösung B (Dextrose).
8. „ „ Nährlösung B (Saccharose).
9. Kartoffelkeile.
10. Apfelkeile.

An den wiederholt angestellten Gipsblockkulturen konnte niemals Sporenbildung festgestellt werden. Doch gaben diese den eigentlichen Anlaß zu nachfolgenden Untersuchungen, da sich stets am zweiten Tag der dem Gipsblock auflagernde, aus Nährlösung B stammende Sproßpilz ganz auffällig tief ockerrot färbte.

I. Morphologisches.

Die Gestalt der Zellen ist in gehopfter Bierwürze rund, oval-ellipsoidisch, seltener gestreckt. Ihre Größe schwankt bedeutend: 3—7 : 2—6 μ (Fig. 1).



Fig. 1. 3 Tage alte Kultur in gehopfter Bierwürze (11° B) bei 21—25°.

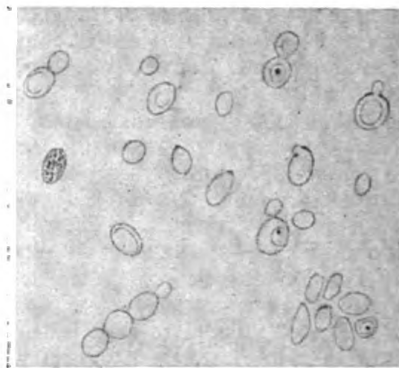


Fig. 2. 3 Tage alte Kultur in Nährlösung B bei 21—25°. Vergr. ca. 900/1

¹⁾ K o h l, Die Hefepilze. Leipzig 1908.

²⁾ Die Nährlösung wurde vom Vorstand hiesigen Laboratoriums, Hrn. Dr. B i w e r, zusammengestellt und besitzt folgende Zusammensetzung:

- | | |
|--|---------------|
| 1000 ccm Leitungswasser | |
| 80 g Zucker (Saccharose oder andere Zuckerart) | |
| 50 ccm sterilisierter Apfelmast | |
| 25 ccm Malzkeimextrakt | |
| 2 g phosphorsaures Ammoniak | |
| 1 g Weinstein | |
| 2,50 g Weinsäure | } fakultativ. |
| Spur Fleischpepton | |

Das Malzkeimextrakt hat sich der Hefenentwicklung äußerst förderlich gezeigt. Nach französischer Methode (eau de touraillons) werden die hellgelb gefärbten Malzkeime während $\frac{1}{2}$ Stunde mit genügend Wasser ausgekocht. Die abgepreßte Flüssigkeit wird nach Zusatz weißer Eissubstanz im Autoklaven während $\frac{1}{4}$ Stunde auf 120° C erhitzt. Nachdem die kollierten Stoffe durch Filtration von der heißen, braunen Flüssigkeit abgetrennt sind, wird diese einer nochmaligen Sterilisation im Autoklaven (wie das erste Mal) unterworfen.

Wenn nicht besonders angegeben, sind in der bei den nachfolgenden Versuchen verwendeten Nährlösung B die Weinsäure und das Fleischpepton mit enthalten und ist der vorhandene Zucker Saccharose.

Das Plasma ist schwach lichtbrechend, doch läßt es in fast jeder Zelle eine, selten mehrere große Vakuolen erkennen. In der Nährlösung B (Fig. 2) zeigen die Zellen dieselbe Gestalt und besitzen große, deutliche Vakuolen, von denen verschiedene je ein stark lichtbrechendes Körperchen enthalten. Einzelne Zellen sind an einem Pol zugespitzt. Im Dextrosehefewasser ist das Bild dasselbe, doch treten die Vakuolen bloß schwach hervor. Auch auf Kartoffelkeilen entwickelt sich der Sproßpilz wie in Nährlösung B. In mehreren Monaten alten Kulturen in letzterer Nährflüssigkeit (Fig. 3) treten neben den gewöhnlichen Zellformen zahlreiche, sehr kleine ($1-2\ \mu$) Zellen auf, andere sind stark gekörnt, oder besitzen ein stark lichtbrechendes, rundes oder eckiges Körperchen (a) (Öltröpfchen?). Einzelne Zellen sind stark rot gefärbt (b), haben also den roten Farbstoff aufgenommen. Teils liegen die Individuen isoliert, oder zu 2, oder 3, oder in Sproßverbänden zusammen. Riesenzellen sind sehr selten (Größe $9-12\ \mu$). Dieselben sind von unregelmäßiger Gestalt und besitzen einen undeutlich gekörnten, mit einem stark lichtbrechenden Körperchen versehenen Inhalt. Daneben befinden sich Zellen, deren homogenes Innere überhaupt keine Differenzierung erkennen läßt (d). In einem nach erfolgter Sterilisation mit dem Pilz angesetzten Traubenmost (15°B , 1,40 Proz. Säure!) betrug nach guter Fortentwicklung die Größe der Zellen nach 6 Wochen nur $1-3\ \mu$. Zahlreiche Formen zeigen das Bild Fig. 3 b. Das Aussehen der Zellen auf festen (Würze- und Nährlösung B — Gelatine) Nährböden ist im wesentlichen dasselbe wie in flüssigen.

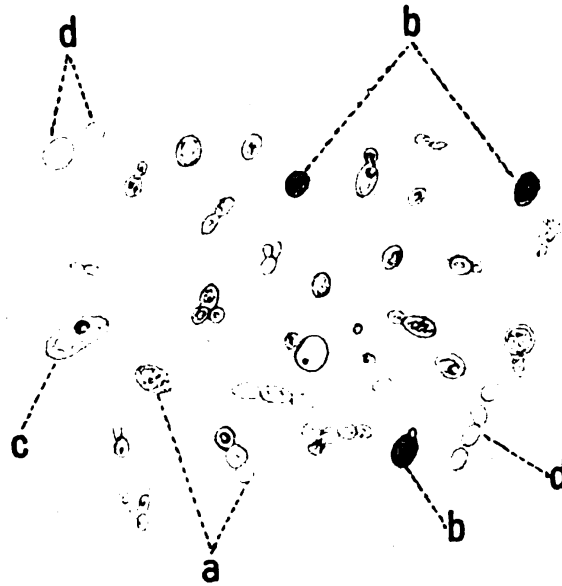


Fig. 3. $2\frac{1}{2}$ Monate alte Kultur in Nährlösung B. a = Zellen mit körnigem Inhalt. b = Zellen mit tiefrot gefärbtem Inhalt. c = Riesenzelle. d = Zellen mit undifferenziertem Inhalt. Vergröß. ca. 1200/1.

II. Entwicklungserscheinungen.

1. Entwicklung in flüssigen Nährböden.

a) Tröpfchenkulturen (nach Lindner) bei 23°C .

Als Nährflüssigkeit diente gehopfte Bierwürze. In den mit Hilfe der Zeichenfeder in die feuchte Kammer gebrachten Deckglaströpfchen gelang es die Entwicklung der Tochterzellen aus einer Mutterzelle deutlich zu verfolgen. Die Vermehrung erfolgt ausschließlich durch Sprossung. Die junge Tochterzelle wird an dem einen Ende der Mutterzelle, oder schwach seitlich von ihm, angelegt. Ist sie hinreichend entwickelt, so wächst zwischen sie und die Mutterzelle, aus letzterer heraus, eine neue Tochterzelle, welche die erste (Schwesterzelle) fortzuschieben scheint und nur locker mit ihr in Verbin-

ung bleibt. Eine jede Tochterzelle wiederholt, zur Mutterzelle geworden, dasselbe Spiel, wodurch die losen Sproßverbände zustande kommen. In Fig. 4 ist der Vorgang veranschaulicht: a = Mutterzelle; b = dieselbe nach 4 Stunden; c = dieselbe 3 Stunden später. Durch Eintauchen eines Teilchens Filtrierpapier in das betreffende Tröpfchen gelang es die Flüssigkeit aufzusaugen und das Zellhäufchen c auseinanderzuteilen, wie d es darstellt.

In Fig. 5 sind bei a und b 7 Stunden alte Kolonien, bei c eine 23 Stunden alte Kolonie gezeichnet. Wie aus der Fig. ersichtlich, beginnen die peripherischen Zellen sich in die Umgebung zu verteilen.

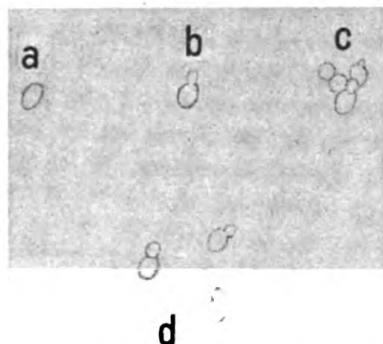


Fig. 4. Entwicklungsstadien 1 Zelle innerhalb 7 Stunden bei 23° in gehopfter Bierwürze von 11° B. a = Ausgangs(Mutter-)zelle. b = dieselbe nach 4 Stunden. c = dieselbe 3 Stunden später. d = c zerteilt. Vergröß. ca. 400/1.

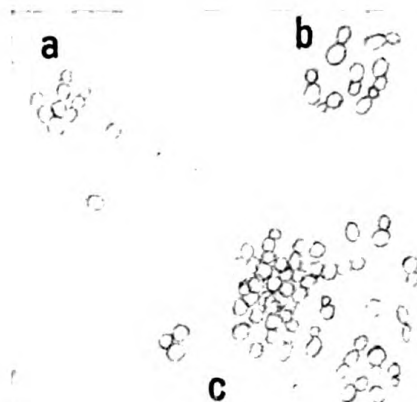


Fig. 5. Tröpfchenkultur in Bierwürze bei 23°. a und b junge Kolonien nach 7 Stunden. c junge Kolonie nach 23 Stunden. Vergröß. ca. 400/1.

b) Entwicklung in größeren Mengen von Nährflüssigkeit.

Die Kulturen standen bei 13—16°, 20—24°, 25°. Die beste Entwicklung fand in Bierwürze statt. Gleich am 2. Tag setzt kräftige Vermehrung ein. Am 3 und 4. Tag zeigen sich deutliche Gärungserscheinungen. Ein weißlicher Bodensatz entsteht, gleichzeitig damit eine ebenso gefärbte Oberflächenhaut.

Weniger gut, aber um so charakteristischer, ist die Entwicklung in der Nährlösung B. Gleich in den ersten Tagen findet auch hier Bildung eines weißlichen Bodensatzes statt. Die Oberflächenhaut, die sich aus kleinen Hautinseln zusammensetzt, zeigt rote bis tiefrote Färbung. Es sei hervorgehoben, daß letztere sich wesentlich von derjenigen der schlechthin rot genannten *Torulaceen* (und der „Rosahefen“) unterscheidet. Der Farbstoff löst sich, schichtenweise von oben nach unten durchsickernd, in der Nährflüssigkeit, dieselbe rot färbend, auf. Bei geringen Erschütterungen sinken die einzelnen Hautinseln stückweise nach unten, wo sie sich als rote Bodensatzhefe ansammeln und bald den ursprünglich weißlichen Bodenbelag ganz überdecken.

Diese in Freudenreich- und Erlenmeyerkölbchen mit je 20—40 ccm Nährflüssigkeit angestellten Versuche, deckten sich vollständig mit denjenigen, zu denen größere Flüssigkeitsmengen (1—2 Liter in Glasballons) verwendet wurden.

Immer, besonders stark natürlich in letzteren Versuchen, tritt ein angenehmer, intensiver Fruchtäther (Obst-)geruch auf, wie ein solcher schon für manche andere *Torula* arten nachgewiesen wurde. Außerdem machen

sich die Erscheinungen einer relativ starken Obergärung geltend: roter, stark mit Hefe durchsetzter Schaum dehnt sich kreisförmig über die ganze Oberfläche aus; bei geringer Erschütterung steigen Kohlensäurebläschen auf.

Im obengenannten Traubenmost (1,4 Proz. Gesamtsäure, 15° B) fand ebenfalls gute Fortentwicklung, starke Farbstoffbildung mit Gärung und Produktion von Fruchtäther statt.

In Dextrosehefewasser (je 40 und 100 ccm in Erlenmeyer-Kölbchen) ist die Vermehrung gut; der Bodensatz färbt sich schwach rötlich (rosa); ein dünnes Oberflächenhäutchen von öligem Aussehen entsteht, dem jedoch, wie auch der Flüssigkeit selbst, die charakteristische Rotfärbung abgeht.

In Mager- und Vollmilch (fraktion. Sterilis.) findet nur schwache Vermehrung und spärliche Bildung eines rötlichen Bodensatzes statt. In einem Fall (die Vollmilch stand mehrere Wochen bei 25° im Brutschrank) konnte deutliche Rotfärbung der ganzen Milch festgestellt werden.

2. Entwicklung auf festen Nährböden.

a) Einzelkulturen.

Das Verfahren war folgendes: Bei 36° verflüssigte sterile Nährlösung B-Gelatine wurde mit einer kleinen Menge kräftiger *Torula*-Zellen gründlich vermischt und von dieser Mischung mittels Glasstabes ein Tropfen auf ein Deckglas mit eingritzten Ziffern aufgetragen. Nach Erstarrung der Gelatine wurde das Deckglas einem Glasring aufgelegt, der durch Vaselinedichtung mit dem Objektträger und Deckglas die Jörgensen-sche feuchte Kammer darstellt. Die Deckglasziffern gestatten eine rasche, sichere Markierung einzelner, gut isolierter, lebenskräftiger Zellen. Laboratoriumstemperatur ca. 15°.

Die Vermehrung erfolgt ausschließlich durch Sprossung. Die Tochterzelle wird in der Regel an einem Pol der Mutterzelle angelegt, kann aber auch seitlich (in einem spitzen Winkel) oder senkrecht zur Längsachse der Mutterzelle herauswachsen. Die Angliederung der neuentstehenden Zellen findet anfänglich nach einer Seite, von der Mutterzelle weg, statt, um nachher diese ganz zu umschließen, wobei dieselbe sich noch lange Zeit durch ihre kräftige Membran deutlich von der Nachkommenschaft abhebt.

Aus einer Mutterzelle entwickeln sich im Laufe von 22 Stunden 6 Tochter-

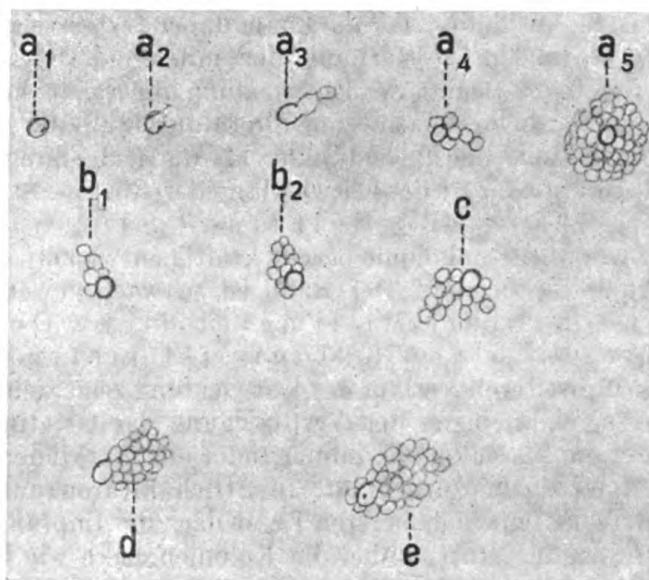


Fig. 6. Einzelkulturen in Nährlösung B bei 15°. a_1 = Mutterzelle. a_2 — a_5 = id. 12, resp. 16, 21 u. 41 Stunden alt. b_1 , b_2 = 16 resp. 21 Stunden alte Kolonie. c = 21 Stunden alte Kolonie. d , e = 22 Stunden alte Kolonien. Vergröß. ca. 300/1.

zellen, in andern Fällen je 10 und 14 Zellen. Am dritten Tage waren bereits regelmäßige, glattrandige Kolonien ausgebildet (Fig. 6).

b) Riesenkulturen.

Bei 18—22° Laboratoriumstemperatur.

Auf Würzegelatine (10—20 ccm in Freudenreich-Kölbcchen) ist am dritten Tage nach der Impfung die Riesenkolonie bereits stark entwickelt: sehr regelmäßiger, etwas gehobener, schwach gezackter Rand, Oberfläche glatt, glänzend, weißgrau. Strich- und Stichkulturen zeigen dieselben Erscheinungen. An den Einstichstellen der Stichkulturen findet besonders starke Entwicklung statt: Während die Innenkolonien nur eine sehr begrenzte Weiterentwicklung im Stichkanal finden, wächst von der Einstichstelle aus die junge Kolonie zur Riesenform heran. Schon in den ersten Tagen beginnen die Riesenkolonien auf ihrer der Gelatine aufliegenden Seite tiefrote Färbung anzunehmen. Erst nach mehreren Wochen wird die Gelatine verflüssigt.

In den Riesenkulturen auf Nährlösung B (8 Proz. Dextrosezusatz)-Gelatine findet schon nach 3 Tagen Gelatineverflüssigung statt, die so lange nach unten fortschreitet, bis die Pilzmasse am Boden des Freudenreich-Kölbcchens angelangt ist. Eine Rotfärbung, weder der Gelatine, noch der Torula kann dabei festgestellt werden, wenn von einer sehr schwachen Rotfärbung der mittleren Hefeschichten an der Kolonieoberfläche zu Beginn der Entwicklung abgesehen wird. Sodann ist die mehrere Millimeter dicke Gelatinezone direkt unterhalb der ständig weiter einsinkenden Riesenkolonie merklich dunkler als die Umgebung gefärbt.

Interessant ist die Entwicklung der Riesen-, Stich- und Strichkulturen auf Nährlösung B — Gelatine + 8 Proz. Saccharose. Am dritten Tag ist die Riesenkolonie bereits kräftig entwickelt. Die Oberfläche ist gelblich, glatt und glänzend. Der Rand ist schwach gewellt und nur wenig erhaben. Eine mehrere Millimeter dicke Gelatinezone direkt unterhalb der Kolonie ist tiefrot gefärbt.

Im weiteren Verlauf der Entwicklung zeigt sich, daß das Stadium der Rotfärbung demjenigen der Verflüssigung der Gelatine unmittelbar vorausgeht, wobei die Riesenkolonie immer tiefer einsinkt, indem sie über sich die tiefrote, flüssige Gelatine zurückläßt. In Strichkulturen (auf schräg erstarrter Gelatine) findet ebenfalls in den ersten Tagen nach der Impfung Rotfärbung und Gelatineverflüssigung statt, wobei die Kolonienmasse wie in einem selbst gegrabenen Flußbett nach unten sinkt.

Die Kolonien der Stichkulturen behalten ihre weiß-gelbliche Färbung im Stichkanal bei, während sie an dessen oberem Ende Rotfärbung und auch nur hier Verflüssigung der Gelatine herbeiführen. Ebenso wie in den flüssigen Nährböden, scheint auch hier der Luftsauerstoff zur Farbstoffbildung in naher Beziehung zu stehen.

In Petri-Schalen tritt auf Würzegelatine nach wenigen Tagen Gelatineverflüssigung um die gelblich bis schwach rötlich gefärbten Kolonien herum ein. Die Farbe der sowohl auf der Oberfläche, als im Innern der Nährlösung B (Saccharose)-Gelatine zerstreuten Kolonien schwankt zwischen tiefrot und gelblich-weiß. Ein roter Gelatinering (Gelatinezone der Riesenkolonien!) umschließt die älteren Kolonien (Fig. 7). Hand in Hand mit dieser Ringbildung (wie sie auch in schwachen Ansätzen auf Würzegelatine auftritt) geht die Verflüssigung der Gelatine vor sich. Auch in den Platten wird ein starker, angenehmer Fruchtäthergeruch entwickelt. Infektionen dieser Kul-

turen sind bei einiger Vorsicht selten. In einem Fall war die Entwicklung eines *Penicillium* (*glaucum*)-Rasens inmitten der roten *Torula*-kolonien mit interessanten Begleiterscheinungen verbunden. Die Schimmelkolonie wuchs behutsam um die kleinen *Torula*-kolonien herum und sah nahher an diesen Stellen wie durchlöchert aus. Vor 2 größeren Kolonien stellte sie ihr weiteres Auswachsen ein und begnügte sich in der Folge, durch Emporwölbung ihres Körpers Raum zwischen den beiden Kolonien für ihre Weiterentwicklung zu schaffen, wodurch sie nach kurzer Zeit wie zusammengerollt erschien.

Auch in flüssigen, stark zuckerhaltigen (12—15° B) Nährböden war bei einem Mindestmaß von Vorsichtsmaßnahmen jede Infektion leicht auszuschließen.

Die Vermutung liegt nahe, daß der in starken Mengen produzierte Fruchthäthergeruch konservierend und desinfizierend auf den Nährboden einwirkte.

Diese Anschauung deckt sich mit derjenigen Lindners: „Auffällig ist, wie wenig solche Würzen, die Fruchthäther enthalten, selbst in unbedeckten Gefäßen durch andere Organismen verunreinigt werden; sie bleiben nahezu

bakterienfrei, offenbar infolge der antiseptischen Wirkung der Fruchthäther“¹⁾. Auch Delbrück²⁾ schließt sich dieser Ansicht an und sieht in den von den „wildten Hefen“ produzierten Esteremengen ein kräftiges Kampfmittel, dessen die Kulturhefen in dem für sie von dem Züchter passend hergestellten Züchtungsmedium nicht nötig hätten. Will³⁾ folgert auf Grund systematischer Versuche, daß geringe Esteremengen (untersucht wurden Amyl- und Äthylester) fördernd, größere hingegen verzögernd auf die Vermehrung der Sproßpilze einwirken und als Kampf- und Schutzmittel im Sinne Delbrück und Lindners nicht anzusehen sind.

Im Hinblick auf ihr besonders starkes Esterbildungsvermögen, sowie ihr anderweitiges physiologisches Verhalten (Mitwirkung bei Reinhefegärungen usw.) soll unsere Form Gegenstand späterer Untersuchungen sein.

Auf Kartoffelkeilen findet rasche Vermehrung statt. Die in den an ihrem untern Ende zum Auffangen des Kondenswassers ringförmig eingezogenen in Reagenzgläsern sterilisierten Kartoffelstücke wurden vermit-

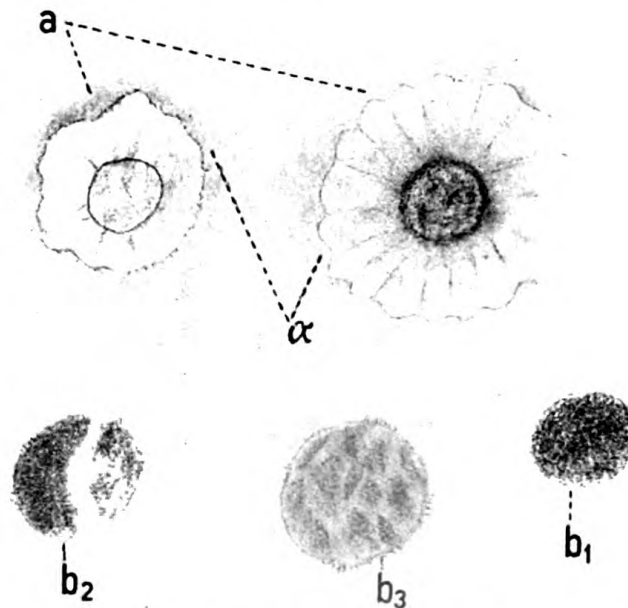


Fig. 7. Kolonien auf und in Nährlösung B — Gelatine, bei schw. Vergröß. a = Oberflächenkolonien mit roter Ringzone (α). b₁—b₃ = Innenkolonien. Die heller gefärbten Partien erscheinen wie Risse eines tiefroten (dunkle Partien) Oberflächenhäutchens.

¹⁾ Lindner, P., Mikroskopische Betriebskontrolle. Berlin (Parey) 1898. p. 292.

²⁾ Nach Will, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 38. 1913. No. 21/25.

³⁾ Will, Einwirkung von Estern auf Hefen und andere Sproßpilze. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 38. 1913. No. 21/25.)

tels je einer Platinöse Impfmateriale (aus einer 3 Wochen alten Nährlösung B) bestrichen und bei 25° in den Thermostaten gestellt. Nach 3 Tagen hatte die Strichkultur bereits die Dicke von ca. 1 mm erreicht und zeigte weißgelbliche Färbung. Die Kartoffel selbst besaß allseitig um die Kolonienmasse herum, in einer Ausdehnung von 2—3 mm, rote Färbung (Fig. 8), welche im Verlauf der weiteren Entwicklung sich immer weiter ausdehnte und fast den ganzen Kartoffelkeil durchsetzte. Die Zellformen zeigten keine besonderen Eigentümlichkeiten; an einer 3 Wochen alten Kultur wurden in den reinweißen, warzenförmigen (ausgetrockneten) Erhebungen auf der Kolonienmasse große, fast den ganzen Zellinhalt ausfüllende, Fetttropfen ähnliche Körper beobachtet.

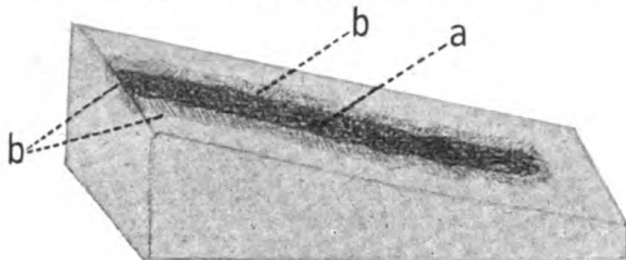


Fig. 8. Schematis. Darstellung einer 4 Tage alten Kartoffelkeilkultur. a = Kolonienmasse, b = rötliche Kartoffelzone. (Nat. Größe.)

gelbliche Färbung und entwickelte ebenfalls eine ca. 2—3 mm dicke, die Kolonienmasse umgebende, rote Apfelfleischzone. Bereits in den jungen Kulturen zeigten sämtliche Zellen stark lichtbrechende, häufig die ganze Zelle ausfüllende Fetttropfen.

Auf sterilisierten und wie die Kartoffelstücke behandelten Apfelkeilen (die als „natürlicher“ Nährboden vergleichsweise zum Versuch verwendet wurden), welche mehrere Tage im Thermostaten bei 25° verweilten, entwickelte sich der Organismus gut, zeigte weißlich

III. Farbstoffbildung.

Es galt festzustellen, welche Faktoren die Bildung des Farbstoffes hervorzurufen, oder wenigstens zu beeinflussen vermögen. Daraufhin wurden Beobachtungen angestellt an Nährlösungen mit verschieden hoher Zuckerkonzentration, mit verschiedenen Zuckerarten, mit verschieden hohem Säuregehalt und an solchen, die einer verschieden lang andauernden Sterilisation unterworfen worden waren.

Auffällig war von vornherein die intensive Rotfärbung der Gipsblockkulturen aus Nährlösung B.

Von den zwei hier in Tätigkeit tretenden Faktoren: Nährstoffmangel, Luftsauerstoff, wird letzterem ein Einfluß wohl nicht abzusprechen sein, wie nachfolgende Beobachtungen bestätigen.

In Bierwürze konnte Rotfärbung weder der Oberflächenhaut, noch der Flüssigkeit selbst, noch des Absatzes beobachtet werden. Die Würze wird nach kurzer Zeit sogar schwach entfärbt. In Bierwürze-gelatine entsteht auf der der Gelatine aufliegenden Seite der Riesenkolonien (Tropfen-, Strich- und Stichkulturen) der rote Farbstoff, der im durchfallenden Licht auch auf der Oberseite der Kolonie durchschimmert, wenngleich letztere Fläche weißgraue Färbung besitzt, die erst nach mehreren Wochen stellenweise leicht gerötet wird. Die Bierwürze-Plattenkulturen besitzen z. T. rote, z. T. weißliche Kolonien, die häufig eine schwachrote Ringzone aufweisen.

In zuckerhaltigem neutralen Hefewasser tritt entweder überhaupt keine Farbstoffbildung, oder nur in der entwickelten Haut auf. Die Flüssigkeit selbst wird niemals rot gefärbt. Die rötlichen Hautflocken

haben die Neigung nach unten zu sinken und sich hier anzusammeln. Die Flüssigkeit wird nach oben an der Glaswand durch einen mehr oder minder starken, weißlichen, flockigen Ring begrenzt. Nachfolgende Tabelle gibt nähere Einzelheiten über das Verhalten der Torula in Hefewasser, dem die Zuckerarten: Lävulose, Dextrose, Saccharose, Galaktose und Milchzucker zugesetzt waren. Erlenmeyer-Kölbchen wurden mit je 100 ccm neutralem Hefewasser, dem je 6 g der genannten Zuckerarten (Merk; chem. rein) zugesetzt wurden, beschickt. Nach fraktionierter Sterilisation (je $\frac{1}{2}$ Stunde) im Kochschen Dampftopf blieben die Kolben während acht Tagen Beobachtungszeit ungeimpft. Die Anstellung der Kulturen erfolgte bei Laboratoriumstemperatur (16—20°).

Nährlösung: Hefewasser + 6 %	Haut nach		Absatz nach		Flüssigkeit nach 14 Tagen
	4 Tagen	14 Tagen	4 Tagen	14 Tagen	
Dextrose	dünn, weißlich	keine Haut (Ring flockig)	flockig, weißlich	schw. rötlich	heller
Lävulose	stark, „	dünn	flockig, rötlich gefleckt	rötlich	dunkler
Saccharose	dünn, „	keine Haut (Ring flockig)	schw., weißlich	schw. rötlich	heller
Galaktose	„ „	keine Haut	flockig, „	„ „	heller
Milchzucker	„ „	—	sehr schwach, weißlich	—	—

Nach 4 Tagen war in allen, außer den Milchzuckerkulturen, eine starke Vermehrungsschichte unterhalb des Häutchens wahrnehmbar. Dieselbe senkte sich langsam zum Bodensatz hinab. Die Milchzuckerkulturen mußten wegen erfolgter Infektion von der weiteren Beobachtung ausgeschlossen werden.

In anderen Versuchen mit Dextrosehefewasser (40 ccm in Erlenmeyer-Kölbchen trat schon am 2. Tag schwache Rotfärbung der Hautflocken ein.

In der Nährlösung B gelingt es fast immer dieselbe oft in sehr intensiver Weise zu erzielen. Doch boten die daraufhin angestellten Versuche verschiedene Überraschungen. Die Farbstoffbildung und -lösung tritt immer in der einfachen Nährlösung B (mit Rohrzucker) auf. Es erschien von Interesse das Verhalten des Pilzes zu eben dieser, aber mit anderen Zuckerarten versetzten Nährlösung B zu beobachten. Die zuckerfreie Nährlösung wurde zu dem Zweck in Mengen von 10 resp. 20 ccm in Freudenreich-Kölbchen eingefüllt, denen 0,5 g der nachfolgenden Zuckerarten zugesetzt wurden: Lävulose, Dextrose, Saccharose, Galaktose, Milchzucker, Maltose, Raffinose, Arabinose. Die Zuckerkonzentrationen waren demnach 5- resp. 2,5-proz. Die Sterilisation erfolgte im strömenden Wasserdampf an mehreren aufeinanderfolgenden Tagen während ca. $\frac{1}{2}$ Stunde. Weder in der 2,5- noch in der 5-proz. Lösung irgendeiner Zuckerart konnte jemals, auch nach Monaten nicht, eine Spur von Rotfärbung, wohl aber gute Vermehrung, festgestellt werden. In einer anderen Versuchsreihe, deren Nährflüssigkeiten genau dieselbe Zusammensetzung wie die vorigen besaßen, die aber nur einer einmaligen, 10—15 Minuten andauernden Sterilisation im strömenden Dampf ausgesetzt wurden, waren nach 5 Tagen alle Zuckerlösungen bis auf die der Dextrose und Lävulose rötlich gefärbt. Dieselben besaßen eine rötliche Haut, die sich allmählich zu Boden senkte. Unter der Oberfläche war die Nährlösung bis auf 1 ccm Tiefe stärker rot gefärbt und von hier schien sich der Farbstoff

in die übrige Flüssigkeit zu verbreiten. In den nächsten Tagen nahm die Rotfärbung rasch in allen Lösungen bis auf die der zwei genannten zu. Jedoch begann nun auch in diesen dieselbe bemerklich zu werden, und zwar zuerst in der Dextroselösung. Die Saccharoselösung scheint den Übergang der Färbungstiefen zwischen den Lösungen von Arabinose, Raffinose, Milchzucker, Maltose, Galaktose einerseits und denen von Dextrose und Lävulose andererseits darzustellen, da sie stärker als diese, aber schwächer rot als jene gefärbt ist. Die späteren Parallelversuche ergaben dasselbe Resultat.

Um näheres über den Einfluß der Zuckerkonzentration auf die Farbstoffbildung zu erfahren, wurden Freudenreich-Kölbchen mit je 20 ccm zuckerfreier Nährlösung B beschickt, denen folgende Saccharosemengen zugesetzt wurden.

$$\begin{array}{l} 0,5 \text{ g} = 2,5 \% (Z_1) \\ 1 \text{ g} = 5 \% (Z_2) \\ 2 \text{ g} = 10 \% (Z_3) \\ 3 \text{ g} = 15 \% (Z_4) \\ 4 \text{ g} = 20 \% (Z_5) \end{array}$$

Die Überimpfung erfolgte aus einer 1 Monat alten Dextrosehefewasserkultur. Nach 1 Woche war intensive Rotfärbung der Nährlösung Z_1 , abnehmend geringere in Z_2 — Z_5 eingetreten. Die geringen Zuckerkonzentrationen scheinen demnach die Farbstoffbildung zu begünstigen.

Aus dem Verhalten der *Torula* in den während mehreren Tagen sterilisierten Nährlösungen ging hervor, daß längeres Erhitzen die Farbstoffbildung hemmt oder unterdrückt. Dasselbe ergibt sich auch aus nachstehendem Versuch: Erlenneyer-Kölbchen wurden mit je 30 ccm 5-proz. Nährlösung B (Saccharose) beschickt und verschieden lang erhitzt:

No. 1	bis auf	75°—80°	im Wasserbad, sofort kalt gestellt
No. 2	„ „	87°	„ „ „
No. 3	„ „	87°	„ „ während 15 Minuten
No. 4	wird kurz nach dem Erscheinen des ersten Dampfes aus dem Kochschen Dampftopf entfernt		
No. 5	bleibt 20 Minuten im strömenden Dampf		
No. 6	„ 40 „ „ „ „		
No. 7	„ 40 „ „ „ „		

und wird am nächsten Tag ebenso lang erhitzt.

Vier Tage nach der Überimpfung zeigen Nr. 1—4 rote, stark fettige Haut, Nr. 5—7 rote, schwache Haut. Nach 4 weiteren Tagen ist die Lösung 1—4 rot gefärbt, während 5—7 unverändert sind. Später stellt sich jedoch auch in diesen die Rotfärbung ein. Aus einem weiteren Versuch ging hervor, daß in den überhaupt nicht sterilisierten Nährlösungen Rotfärbung am stärksten und in kürzester Frist auftritt.

Auch der Säuregehalt der Nährlösung ist auf die Farbstoffbildung von Einfluß. Dextrose- und Saccharosenährlösung B werden mit und ohne Weinsäurezusatz zu je 40 ccm in Erlenneyer-Kölbchen eingefüllt und 10 Minuten dem strömenden Dampf ausgesetzt.

D_1, D_2, D_3	= 8-proz. Dextrose-Nährlösung B + 0,25 % Weinsäure
D_4, D_5, D_6	= „ „ „ B ohne „
S_1, S_2, S_3	= „ Saccharose-Nährlösung B + 0,25 % Weinsäure
S_4, S_5, S_6	= „ „ „ B ohne „

Die Kulturen stehen im Brutschrank bei 25°. Nach wenigen Tagen sind S_4 — S_6 bereits bedeutend dunkler als S_1 — S_3 gefärbt. Bei D_1 — D_6 macht sich derselbe Unterschied, jedoch wesentlich schwächer geltend. Nach 14 Tagen

zeigen S_4 — S_6 folgendes Bild: Flüssigkeit tief braunrot gefärbt, Häutchen kaum wahrnehmbar, Absatz rot. S_1 — S_3 : Flüssigkeit hellrot (nur mit einem Stich ins bräunliche), Häutchen deutlich, mit glänzenden, öligen Flecken, Absatz rot. D_4 — D_6 : Flüssigkeit etwas gelblich-rötlich gefärbt, Häutchen rot, Absatz gelblich-weißlich. D_1 — D_3 : Flüssigkeit nicht oder nur sehr wenig dunkler gefärbt, in letzterem Fall immer noch viel heller als D_4 — D_6 . Die Farbenunterschiede blieben auch in der Folgezeit bestehen.

Diese Beobachtungen zeigen, daß das Farbstoffbildungsvermögen der *Torula* abhängig ist 1. von der Nährflüssigkeit: Nährlösung B mit Arabinose, Raffinose, Maltose, Milchzucker, Galaktose und Saccharose (letztere weniger stark) wird am stärksten gefärbt; 2. von der Zuckerkonzentration (Saccharose): je höher diese, um so schwächer die Farbstoffbildung; 3. von der Sterilisationszeit: je länger diese, um so schwächer die Farbstoffbildung; 4. von dem Säuregehalt: fehlt die Säure-(Weinsäure), oder ist sie nur in minimalen Mengen (wie in der säurefreien Nährlösung B) vorhanden, so ist die Dunkelfärbung am stärksten.

Auffällig erscheint, daß gerade jene Zuckerarten der Farbstoffbildung am günstigsten sind, welche von der *Torula* nicht vergoren werden (siehe Gärvermögen): Arabinose, Raffinose, Maltose, Milchzucker, Galaktose. Weniger günstig wirkt Saccharose, die schwächer vergoren wird als Dextrose und Lävulose, bei denen die Farbstoffbildung am trügsten und schwächsten vor sich geht. Ferner konnte direkt nachgewiesen werden, daß in den intensiv rotbraun gefärbten Nährlösungen B (säurefrei) andererseits keine Spur Alkohol gebildet wurde, während in denselben Nährlösungen (+ 0,25 Proz. Weinsäure) geringere Farbstoffbildung bei guter Gärung festgestellt wurde.

Es drängt sich die Vermutung auf, daß bei diesen Zuckerarten entweder der gebildete Alkohol, oder die bei der Gärung von der Flüssigkeit aufgenommene Kohlensäure, oder auch beide zusammen der Farbstoffbildung hinderlich sind. Für die Weinsäure konnte diese Wirkung oben bereits nachgewiesen werden. Daß in höheren Saccharosekonzentrationen geringere Rotfärbung eintritt, ließe sich dadurch erklären, daß durch den Säuregehalt der Nährflüssigkeit B beim Erhitzen eine gewisse Menge Saccharose in leicht vergärbare Monosaccharide invertiert werden konnte, während dies für geringe Konzentrationen nicht oder nur unmerklich der Fall sein dürfte.

Diese Annahme würde auch erklären, warum durch länger andauernde Sterilisation die Farbstoffbildung hintangezogen wird. Hier werden durch wiederholtes Erhitzen größere Mengen leicht vergärbaren Invertzuckers gebildet. Daß nachträglich doch Rotfärbung eintritt, wäre dann auf das allmähliche Entweichen (besonders durch Schütteln) der Kohlensäure und eventuell des Alkohols zurückzuführen.

Ein Einfluß des Lichtes auf die Farbstoffbildung war in keinem Fall nachweisbar. Die im Dunkel oder Licht aufgestellten Kulturen wiesen auf demselben Nährmedium stets dieselbe Rotfärbung auf.

IV. Gärvermögen.

Dasselbe wurde nach der Lindnerschen Kleingärmethode, dem Klöckerschen Verfahren (zum Nachweis von Spuren Alkohol) und bei größeren Mengen durch Destillation und Bestimmung des spezifischen Gewichtes festgestellt.

Zur Verwendung kamen Kulturen in Nährlösung B, neutralem Hefewasser, Bierwürze und Most (Trauben- und Obstmost). Geprüft wurden auf ihre Ver-

gärbarkeit: Lävulose, Dextrose, Saccharose, Galaktose, Milchzucker, Maltose, Arabinose und Raffinose.

Bei der Kleingärmethode wurde in der Weise verfahren, daß 8 Freudenreich-Kölbchen je 25 ccm Nährlösung B, der 4 Proz. des zu prüfenden Zuckers zugesetzt wurden, erhielten. Nach einer einmaligen, 15 Minuten andauernden Sterilisation im strömenden Dampf, wurden sie mit je einer Platinöse aus einer Dextroschefewasserkultur geimpft. Am nächsten Tage wurde mittels Glasstab je ein Tropfen aus den Freudenreich-Kölbchen in den Vaseline ring eines Objektträgers eingetragen und mit einem Deckglas eingeschlossen. Die Kulturen standen bei Laboratoriumstemperatur (16—20°).

In nachstehenden Zusammenstellungen bedeutet: — = keine Gärung (keine Bläschen), + = geringe Gärung (kleines Bläschen) ++ = stärkere Gärung (starkes Bläschen), +++ = starke Gärung (die Hälfte, oder fast die Hälfte des Tropfenraumes einnehmendes Bläschen). Nach 4 Tagen boten die Tröpfchen folgendes Bild, das sich in der folgenden Zeit nicht wesentlich veränderte.

Lävulose (Tropfen)	++
Dextrose	++
Saccharose	+
Galaktose	—
Milchzucker	—
Maltose	—
Raffinose	—
Arabinose	—

Die p. 626 beschriebenen Versuche mit Nährlösung B, der die verschiedenen Zuckerarten zugesetzt waren (je 10 resp. 20 ccm Nährflüssigkeit in Freudenreich-Kölbchen; fraktion. Steril.) ergaben nach 1 Monat (bei 20—25°) nach dem Klöckerschen Verfahren folgende Vergärungsgrade:

Dextrose	+++
Lävulose	+++
Saccharose	—
Galaktose	—
Milchzucker	—
Maltose	—
Raffinose	—
Arabinose	—

Nach 3½ Monaten war das Bild der Kontrollkulturen genau dasselbe. Saccharose wurde nicht vergoren!

Die zur Durchführung der Kleingärmethode hergestellten Nährlösungen (je 25 ccm in Freudenreich-Kölbchen) verhielten sich nach 10 Wochen Entwicklungsdauer bei 17—20° nach dem Klöckerschen Verfahren wie folgt:

Dextrose	+++
Lävulose	+++
Saccharose	++
Galaktose	—
Milchzucker	—
Maltose	—
Raffinose	—
Arabinose	—

In einer 10 Tage alten Bierwürzekultur war ebenfalls Alkohol in relativ beträchtlichen Mengen gebildet worden, welcher natürlich von den

neben der Maltose in diesem Nährboden stets vorhandenen leicht vergärbaren Zuckerarten stammen mußte.

In den p. 19 näher beschriebenen Hefewasserkulturen wurde nach 6 und 9 Wochen Versuchsdauer Alkohol wiederum in den Dextrose-, Lävvulose- und Saccharoselösungen, außerdem eine Spur in den Galaktoselösungen festgestellt. Saccharose wird auch hier schwächer als die Monosaccharide vergoren.

Die in größeren Mengen der Nährlösung B durch Bestimmung des spezifischen Gewichtes des Destillates ermittelten höchsten Alkohol-Vol. Prozente betrugen nach einer mindestens dreiwöchentlichen Versuchsdauer für die

Saccharose-Nährlösung (18° B, 1—2 l)	3,30
Dextrose-Nährlösung (18° B, 300 ccm)	4,29
Lävvulose-Nährlösung (18° B, 300 ccm)	4,43

Schlußbemerkung.

In den in der Literatur nur zerstreut erschienenen Abhandlungen und Angaben über die *Torulaceen* gelang es mir nicht eine Form ausfindig zu machen, die sich mit der vorliegenden identifizieren ließe. Charakteristisch für sie ist die Bildung des roten bis tiefroten Farbstoffs nach kurzer Zeit. Wohl vermögen auch andere *Torulaceen* einen solchen zu bilden, doch immer erst nach längerer Versuchsdauer und wohl nie so intensiv. Daß es sich um eine eigentliche „rote“ *Torula* überhaupt nicht handelt, geht schon daraus hervor, daß ihr Farbstoff rot bis tiefrot, nicht aber rosa ist und sich in der Flüssigkeit auflöst. Zudem ist sie in gewissen Nährmedien (wie Bierwürze) überhaupt nicht gefärbt. Die zum Vergleich herangezogene rote *Torula* No. 36 von Janssens und Mertens¹⁾, welche mir in liebenswürdiger Weise von Prof. Biourge-Löwen übermittelt wurde und die ebenfalls in gewissen Nährflüssigkeiten schon in den ersten Tagen eine leichte, rosa gefärbte, bei leisen Erschütterungen zu Boden sinkende Haut bildet, überzeugte mich sofort durch ihre Entwicklungserscheinungen sowohl in Bierwürze, als in Nährlösung B, von der Artverschiedenheit unserer Form mit den in Frage stehenden roten *Torulaceen*, zu denen auch die von Schimon²⁾ untersuchten Arten *Torula rubra* und *sanguinea*, denen das Gärvermögen übrigens vollständig abgeht, zu rechnen sind.

Kramer³⁾ fand im Moste eine obergärige *Torula*, welche ebenfalls einen roten, wasserlöslichen Farbstoff bildet. Sie vergärt Dextrose stark; Saccharose wird invertiert, Maltose hingegen direkt vergoren. Gerade durch das Gärungsvermögen letzterer Zuckerart gegenüber, sowie ihre Zellengröße (1—3 μ) und die erst nach längerer Zeit (mindestens 14 Tage) auftretende leichte Rotfärbung der Kolonien und Kulturflüssigkeit unterscheidet sich Kramers *Torula* wesentlich von der unsrigen.

Die von Kalanthar⁴⁾ aus dem armenischen Mazun (kefirähnliches Getränk) isolierte Art, deren Riesenkolonien anfangs grünlich-grau, später pfirsichrot erscheinen, vergärt Milchzucker, erübrigt also schon dadurch eine weitere Identitätsbestimmung mit unserer *Torula*.

¹⁾ Étude cytologique sur une torula rose par Janssens et Mertens. (La Cellule. T. 20. 1903.)

²⁾ Will, H., Beiträge zur Kenntnis rotgefärbter niederer Pilze. Nach Untersuchungen von O. Schimon. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 35. 1912. No. 6/10.)

³⁾ Kramer, E., Über einen rotgefärbten, bei der Vergärung des Mostes mitwirkenden Sproßpilz. p. 3.

⁴⁾ Nach Jörgensen, Die Mikroorganismen der Gärungsindustrie. 5. Aufl. p. 407.

Diese dürfte eine neue Form sein, für die ich den Namen „*Torula rubefaciens*“ in Vorschlag bringe.

Aus obigem geht bereits hervor, daß ihr Farbstoffbildungsvermögen an sich eine in der Literatur der Sproßpilze nicht isolierte Erscheinung ist. An den verschiedensten farblosen *Torula*-stämmen konnte schwache Rotfärbung des Nährmediums nach längerer Versuchsdauer beobachtet werden. Kossowicz, Schander, Naumann¹⁾ stellten an Sproß- und Spaltpilzen unter bestimmten Vegetationsbedingungen ebenfalls Bildung roten Farbstoffs fest. Lasseur und Thiry²⁾ erwähnen, daß *Bac. mesentericus niger* Biel et Lunt für gewöhnlich graublaue Kolonien liefert, die mit zunehmendem Alter schnell eine schwärzliche Farbe annehmen. In eignen Untersuchungen konnten diese Forscher für *Bac. chloraphis* in näher beschriebenen Nährlösungen ebenfalls starke Farbveränderungen wahrnehmen. Dasselbst entwickelt *Bac. mesentericus fuscus* Fluegge einen schönen, ziegelroten Hautschleier, während zwei aus dem Munde des Menschen isolierte *Aktinomyces*-formen die Flüssigkeit goldgelb färben, obschon ihnen das Farbstoffbildungsvermögen für gewöhnlich abgeht.

Zusammenfassung.

Torula rubefaciens n. sp. trägt nachstehende Hauptmerkmale:

1. Die Größe der Zellen schwankt zwischen 3—7 : 2—6 μ . Ihre Form ist rund, oval-ellipsoidisch.

2. Ihre Vermehrung erfolgt ausschließlich durch Sprossung.

3. Ihre Entwicklung ist üppig in Bierwürze. In Most und Nährlösung B entwickelt sie reichlich einen roten, wasserlöslichen Farbstoff, wobei starke Fruchtätherproduktion stattfindet.

4. Riesenkolonien auf Bierwürze- und Nährlösung B-Gelatine sind entweder unterseits, oder allseits stark rot gefärbt und mit roter Ringzone versehen. Sie peptonisieren die Gelatine rasch.

5. Riesenkulturen auf Kartoffel- und Apfelkeilen besitzen dieselbe rote Ringzone im Kartoffel- resp. Apfelfleisch.

6. Die Farbstoffbildung wird beeinflusst durch die Zuckerart (günstig wirken die unvergärbaren Zucker), die Zuckerkonzentration und durch den Säuregehalt der Nährlösung B, sowie durch deren Sterilisationsdauer.

7. Vergoren werden am besten Lävulose und Dextrose (— 4,43 Vol. Proz. Alk.), schlechter Saccharose, spurenweise Galaktose, nicht Milchzucker, Maltose, Raffinose und Arabinose.

Es sei mir an dieser Stelle gestattet, dem Vorstand hiesigen Laboratoriums, Herrn Dr. Biwer, für die mir durch Rat und Tat bei dieser Arbeit gewährte Unterstützung meinen Dank auszusprechen.

¹⁾ Nach Will, Beiträge zur Kenntnis rotgefärbter niederer Pilze. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1912. No. 6/10.)

²⁾ Lasseur et Thiry, Nouvelles colorations présentées par quelques micro-organismes cultivés en milieux synthétiques. (Compt. rend. de la Soc. de Biol. T. 74. 1913. p. 163.)

Über einige Faktoren, welche die Entwicklung von *Penicillium glaucum* beeinflussen. Beitrag zur Kenntnis der Antiseptica und der Narkose.

[Aus dem Institut für organische Chemie der technischen Hochschule in Delft.]

Von Dr. H. J. Waterman, Dordrecht.

Inhalt.

Ausgangspunkt meiner Versuche und Historische Übersicht	639
Experimenteller Teil:	
§ 1. Die Untersuchungsmethode	647
§ 2. Darstellung der Oxybenzoësäuren	648
§ 3. Aromatische Verbindungen als Kohlenstoffquelle	649
§ 4. Hemmende Wirkung mehrerer Verbindungen auf die Entwicklung von <i>Penicillium glaucum</i>	651
§ 5. Einfluß der Konzentration	654
Die Verarbeitung im Organismus. Die Umwandlung von Salicylsäure in Gentisinsäure:	
§ 1. Eigenschaften der Gentisinsäure	657
§ 2. Die Umwandlung von Salicyl- in Gentisinsäure unter dem Einfluß von <i>Penicillium</i>	658
Der Zusammenhang zwischen physiologischer Wirkung und der Verteilung Öl: Wasser:	
§ 1. Einleitung	661
§ 2. Bestimmung der Verteilung: Olivenöl: Wasser	664
§ 3. Resultate und nähere Erörterungen	668
Die absolute Löslichkeit in Wasser und in Lipoid	670
Die Wirkung wäßriger Lösungen der zweibasischen Säuren der Oxalsäurereihe, die Wirkung der Wasserstoffionen und die Natur der Protoplasmawand	
§ 1. Oxalsäure und verwandte Verbindungen	675
§ 2. Eine Erklärung der Wirkung der Wasserstoffionen in Zusammenhang mit der Natur der Protoplasmawand	683
Die chemische Bindung bei der antiseptischen Wirkung	684
Das abweichende Verhalten der Anfangsglieder der homologen Reihen	684
Die Oberflächenspannung bei der Wirkung der wasserlöslichen Stoffe auf den Organismus	685
Zusammenfassung	685

Ausgangspunkt meiner Versuche und Historische Übersicht.

Die Bildung einer beträchtlichen Pilzdecke auf Lösungen von Para- und von Meta-Oxybenzoësäure in Leitungswasser, während analoge Lösungen von Salizylsäure sich nicht änderten, war der Ausgangspunkt meiner Versuche.

Die antiseptische Wirkung der Salizylsäure ist bekannt; ebenso hatte schon Kolbe¹⁾ beobachtet, daß die anderen Oxybenzoësäuren keine antiseptische Wirkung ausüben.

¹⁾ Kolbe, Journal f. prakt. Chem. Ser. 2. Bd. 10. p. 107.

Bei dem Studium der Substitutionsprodukte des Benzols vom chemischen Standpunkte aus hat man nachgewiesen, daß die ortho- und para-substituierten Derivate sich im allgemeinen gleich verhalten und einigermaßen als Antipoden der Meta-Derivate zu betrachten sind. Bei der Synthese nach Kolbe zur Darstellung der Oxybenzoësäuren aus Phenol z. B. entstehen sowohl die Ortho- als auch die Para-Oxybenzoësäure, zwar in wechselnden Quantitäten, abhängig von der Arbeitsmethode. Von der Meta-Oxybenzoësäure aber sind nur Spuren nachzuweisen.

Hier standen aber die Para- und Meta-Verbindung der Ortho-Oxybenzoësäure gegenüber.

Auf den Rat von Prof. Böeseken versuchte ich, die Ursache dieses abweichenden Verhaltens zu ergründen. Nachdem der eingangs erwähnte Pilz als *Penicillium glaucum* identifiziert worden war, wurde das Verhalten dieses Pilzes zu zahlreichen Benzol-Derivaten geprüft.

Zu Beginn dieser Untersuchung meinte ich, daß die beobachteten Unterschiede in der physiologischen Wirkung der betreffenden Verbindungen in direktem Zusammenhang mit der Natur und Stelle der verschiedenen Gruppen im Molekül stehen; bald aber wurde gefunden, daß dies nicht der Fall war, daß die Ursache des physiologischen Verhaltens einen tieferen Ursprung hat und auf Eigenschaften der Verbindungen beruht, die aus der chemischen Konstitutionsformel nicht ersichtlich sind. Bei den von mir in Zusammenhang mit den Oxybenzoësäuren an erster Stelle untersuchten aromatischen Säuren und Phenolen war es das Verhältnis der Löslichkeit in Olivenöl und in Wasser, welches hierfür maßgebend war. Die Abhängigkeit der hemmenden Wirkung von der Löslichkeit in Fetten oder fettartigen Substanzen geht parallel mit der Zu- resp. Abneigung von *Penicillium glaucum* bestimmten Substanzen gegenüber, und beide Erscheinungen sind daher bis zu einem gewissen Maße unabhängig von der chemischen Zusammensetzung der Verbindungen.

Die eigentümlichen Eigenschaften, die für die in Öl leicht löslichen Substanzen charakteristisch sind, sind schon lange bekannt, aber erst seit ungefähr 12 Jahren, nach den grundlegenden Studien von E. Overton vom allgemeinen Gesichtspunkte aus betrachtet worden. Overton nimmt an, daß die Protoplasmawand aus einer geschlossenen Schicht von Lipoiden (fettartigen Substanzen) besteht. Diese Stoffe, welche den Eintritt der in Wasser leicht löslichen Verbindungen erschweren, können den Durchgang der in Öl gut löslichen Verbindungen erleichtern, so daß die letzteren imstande sind, rasch ins Protoplasma zu gelangen und die normalen Funktionen desselben zu stören.

Obgleich durch diese Theorie für das Verhalten der ersten Reihe der von mir untersuchten Substanzen tatsächlich eine genügende Erklärung gegeben wurde, konnte sie nicht immer ohne weiteres angewendet werden. Auf Kosten von zahlreichen Substanzen, die in Öl unlöslich sind, entwickelte sich nämlich der Pilz in ausgezeichneter Weise, und andere analog zusammengesetzte Substanzen, die in Öl sehr leicht löslich sind, waren für den Pilz auch geeignete Nährstoffe.

Durch eine systematische Vergleichung von Gliedern homologer Reihen habe ich versucht, eine Erklärung für diese Abweichungen zu finden, wobei die ursprüngliche Overton'sche Auffassung in mancher Hinsicht geändert werden mußte; auch haben schon andere Forscher im Zusammenhang mit dem Eintritt von in Öl nicht löslichen Substanzen in die Zelle darauf hingewiesen.

Bei der Fortsetzung dieser Untersuchung wurden noch mehrere Beobach-

tungen gemacht über die Giftigkeit von anorganischen Verbindungen¹⁾, über die Wirkung von starken organischen Säuren (Oxalsäure), über die Abweichungen der ersten Glieder von homologen Reihen²⁾, aus welchen Untersuchungen hervorging, daß auch die chemischen Eigenschaften der Stoffe manchmal für deren physiologische Wirkung entscheidend waren.

Bis heute hat man noch nicht in systematischer Weise untersucht, welche organischen Verbindungen als alleinige organische Nahrung für *Penicillium glaucum* dienen können.

Daß einige organische Verbindungen als Kohlenstoffquelle besser geeignet waren als andere, ist natürlich schon lange bekannt. Die wichtige Entdeckung von Pasteur, der gefunden hatte, daß *Penicillium glaucum* imstande war, aus einer Lösung von Traubensäure die Rechtsweinsäure rascher als die Linkssäure zu zerstören, hatte gezeigt, daß hierfür nicht bloß einfache chemische Unterschiede maßgebend waren. Nach Pasteurs Entdeckung versuchte man, zahlreiche racemische Gemische mittels der biochemischen Methode zu spalten, aber zu einem näheren Studium der Wirkung der organischen Stoffe auf Pilze gaben diese Versuche dennoch keine Veranlassung. Nur ging daraus hervor, daß mehrere ziemlich einfach zusammengesetzte Verbindungen als einzige Kohlenstoffquelle geeignet waren. Die einzige systematische Untersuchung welche vorliegt, ist diejenige Raulins über die Kulturbedingungen von *Aspergillus niger*; es wurde aber hier hauptsächlich der Einfluß der anorganischen Nahrung berücksichtigt. Die Zufügung einer ziemlich großen Quantität Weinsäure bei den Raulinschen Versuchen war notwendig, um der Entwicklung von Bakterien vorzubeugen. Die späteren Forscher haben mit peinlicher Sorgfalt diese Weinsäure in der vorgeschriebenen Quantität zugefügt. Da aber diese Säure eine ausgezeichnete Kohlenstoffquelle für Pilze darstellt, haben ihre Versuche keine einwandfreien Resultate liefern können, insoweit es Kohlenstoffnahrungsversuche galt.

Obgleich also zielbewußte Versuche in der von mir angegebenen Richtung nicht ausgeführt sind, begegnete ich auf einem ganz anderen Gebiet, augenscheinlich mit meinen Untersuchungen nicht in Zusammenhang stehend, wichtigen Studien, welche ich bei der Erklärung meiner Resultate mit gutem Erfolg benutzt habe. Es war dies an erster Stelle die Arbeit von E. Overton, bestätigt und erweitert von Hans Meyer. Im Jahre 1901 hat Overton seine Untersuchungen zusammengefaßt in seinen „Studien über die Narkose“ (Jena 1901). Die darin ausgesprochenen Gedanken gelten hauptsächlich auch heute noch; sie beruhen auf einer überaus großen Anzahl sorgfältig beschriebener Versuche. Overton betrachtet fast ausschließlich die narkotische Wirkung von Lösungen mehrerer Verbindungen auf Froschlarven (Kaulquappen). Er beobachtete, daß die narkotische Wirkung im allgemeinen umkehrbar war. Auch kann die Narkose aufgehoben werden, wenn das Narkotikum im Organismus chemischen Änderungen unterliegt, oder durch die rasche Ausscheidung des ungeänderten Narkotikums, z. B. in den Produkten der Atmung, in den Drüsen usw. Die Umkehrbarkeit der Narkose weist schon auf die physikalische Natur dieses Prozesses hin. Overton nimmt denn auch an, daß die Narkotika in die Lezithin- und Cholesterin-artigen Bestandteile der Zellen übergehen und hierdurch den physikalischen Zustand dieser Lipoidbestandteile so ändern, daß dieselben ihre normalen Funktionen in den Zellen nicht mehr ausüben können. Über das Wesen der Narkose macht Overton keine weiteren Angaben. Wichtig war aber der von ihm angeführte Zusammenhang zwischen dem Auflösen der betreffenden Verbindungen in den Lipoidbestandteilen und der Narkose. Nach Overton wird die narkotische Kraft eines indifferenten Narkotikums hauptsächlich bestimmt von dem Verteilungsfaktor. Wenn aber die absolute Löslichkeit in den Lipoidbestandteilen der Zelle unterhalb eines bestimmten Betrages sinkt, so kann die betreffende Verbindung trotz einer möglichst großen Verteilung Lipoid: Wasser nicht mehr narkotisch wirksam sein. Overton war sich vollkommen bewußt, daß die Verbindungen neben maßgebenden physikalischen, noch spezifische Eigenschaften besitzen, welche bisweilen von großer Bedeutung sein können. So sagt Overton³⁾: „Da in vielen Fällen leicht gezeigt werden kann, daß ein chemischer Eingriff in diese Verbindungen (Lezithine usw.) durch die indifferenten Narkotika nicht stattfindet und es sich also wirklich bloß um eine Änderung des physikalischen Zustandes der Lezithine usw. handeln kann, so wird in erster Linie die Menge der aufgenommenen

¹⁾ Vgl. J. Böeseken u. H. J. Waterman, Folia microbiol. Holländ. Beitr. z. gesamt. Mikrobiol. Bd. 1. 1912. p. 342.

²⁾ Vgl. J. Böeseken u. H. J. Waterman, Chem. weekbl. 9. 1912. p. 694.

³⁾ l. c. p. 54.

fremden Verbindung (Narkotikum) für die Stärke der Wirkung maßgebend sein, obgleich es keineswegs ausgeschlossen erscheint, daß der qualitativen Natur der Verbindung eine gewisse Bedeutung zukommt.“ Deshalb muß es uns einigermaßen wundern, daß Overton in seiner Arbeit die Narkotika in indifferente und in basische Narkotika einteilen will, welche letzteren neben der rein narkotischen noch andere Wirkungen ausüben. Konsequenterweise hätte er außer den basischen Narkoticis noch zahlreiche andere Gruppen unterscheiden müssen: ebenso viele Gruppen, als es besondere Gruppen von chemischen Verbindungen gibt. Diese Bemerkungen können den Wert der von Overton aus seiner umfangreichen Arbeit abgeleiteten Regelmäßigkeiten nicht mindern. Für die Praxis der Laboratoriumsversuche war es ein glücklicher Umstand, daß die Verteilung der chemischen Verbindungen zwischen Öl und Wasser im allgemeinen parallel geht mit der Verteilung zwischen den Lipoidbestandteilen und wässrigen Flüssigkeiten. Weiter sagt Overton¹⁾, daß es wahrscheinlich ist, daß die osmotischen Eigenschaften der Zellen gerade durch das aufgequollene Gemisch von Lezithin und Cholesterin verursacht werden, weil alle Verbindungen, die in diesem Gemisch löslich sind, in die lebenden Zellen hineindringen mit einer Schnelligkeit, die mit der Verteilung Lipoid : Wasser in richtigem Verhältnis steht. Es erscheint von großem Interesse, die Overton'schen Auffassungen mit den Experimenten von de Vries und Hamburger zu vergleichen, welche in der Theorie von van't Hoff, über die Gesetze der verdünnten Lösungen, eine genügende Erklärung fanden, indem nur die Stoffe, welche nicht oder nicht rasch die Protoplasmawand passieren, Plasmolyse verursachen können. Diejenigen, welche praktisch nicht eindringen, werden dauerhaft plasmolysieren. Wenn sie, sei es auch mit geringer Schnelligkeit, eindringen, so verschwindet die Plasmolyse allmählich.

Tatsächlich waren dergleichen Substanzen bekannt, und Overton konnte nachweisen, daß das Verhalten der Verbindungen in hohem Grade mit ihrer wachsenden Löslichkeit in Fett parallel ging. Die Theorie Overtons lenkte besonders die Aufmerksamkeit auf die physikalischen Eigenschaften der Stoffe.

Früher hatte man meistens bestimmten Gruppen in den Molekülen große Bedeutung zuerkannt. Eine chemische Theorie, die schon mehr den physikalischen Eigenschaften Rechnung trug, wurde schon im Jahre 1847 von Bibra und Harless aufgestellt. Diese Forscher meinten, aus experimentellen Ergebnissen ableiten zu können, daß das Gehirn durch den im Blute zirkulierenden Äther bei der Äthernarkose entfettet wird. Ungefähr 20 Jahre später stellte Hermann²⁾ fest, daß alle aliphatischen Narkotika, die roten Blutkörper, deren Lezithingehalt er festgestellt hatte, zur Auflösung bringen und kam hierdurch zum Schlusse, daß das Lezithin, Cholesterin und die Fette der Nerven die gemeinschaftlichen Angriffspunkte der Narkotika sind. Eine Bestätigung wurde auch gefunden in älteren Untersuchungen von Lallemand, Perrin und Duroy³⁾, die festgestellt hatten, daß bei der Alkohalnarkose im Gehirn und in der Leber immer mehr Alkohol als im lezithin- und fettärmeren Blute und in den anderen Geweben gefunden wird. Auch bei der Chloroformnarkose fand Pohl⁴⁾ analoge Resultate.

Gleichzeitig mit Overton haben Ehrlich und H. Meyer die Aufmerksamkeit auf die Bedeutung der Verteilung Lipoid : Wasser gelenkt. P. Ehrlich vergleicht das Vermögen der Organe, bestimmte Substanzen aufzunehmen, mit dem Ausschütteln von Alkaloiden aus wässrigen Lösungen mittels organischer Lösungsmittel, wie Äther usw.⁵⁾. Die Untersuchungen von Hans Meyer c. s.⁶⁾ gehen in vielen Hinsichten parallel mit denjenigen von E. Overton. — Die Versuche wurden meist mit Fröschen, Tauben, Kaninchen, Hunden usw. durchgeführt.

¹⁾ l. c. p. 32. S. a. E. Overton, Vierteljahrsschr. d. Naturforsch. Gesellsch. Zürich. Bd. 40. 1895. p. 1. Bd. 44. 1899. p. 88.

Nagel, Handb. d. Physiol. d. Menschen. II. 1907.

²⁾ Hermann, Arch. f. Anat. u. Phys. 1866.

³⁾ Lallemand, Perrin et Duroy, L'Union méd. 1859; Gaz. méd. de Paris. 1861. (Ref.)

⁴⁾ Pohl, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. 28. 1891.

⁵⁾ Spiegel, Chem. Konstitution und physiol. Wirkung. (Samml. chem. u. chem.-techn. Vortr. 1909; s. a. Ehrlich, Paul, Beiträge zur experiment. Pathol. u. Chemotherap. Leipzig 1909.)

⁶⁾ Meyer, Hans, Zur Theorie der Alkohalnarkose. I. (Arch. exp. Pathol. u. Pharm. 42. 1899. p. 109); Baum, Fritz, Zur Theorie der Alkohalnarkose. II. (Arch. exp. Pathol. u. Pharm. 42. 1899); Meyer, Hans, Zur Theorie der Alkohalnarkose. III. (Arch. exper. Pathol. u. Pharm. 46. 1901. p. 338); — Vgl. auch Meyer, Hans u. Gottlieb, R., Die experimentelle Pharmakol. als Grundlage der Arzneimittelbehandlung; Meyer, Hans, 7. Intern. Congr. of applied Chem. June 1909.

■ M e y e r stellte die drei folgenden Sätze auf: Alle in Fett und fettartigen Substanzen löslichen Verbindungen, die übrigens indifferent sind, müssen auf das lebende Protoplasma, insofern sie sich darin verbreiten können, narkotisch wirksam sein. 2. Diese Wirkung wird hauptsächlich auf die fettartigen Substanzen der Zellen ausgeübt, so daß die hieran reichen Zellen, das sind zumal die Nervenzellen, Angriffspunkte sein werden.

3. Im allgemeinen wird die Natur der Wirkung der gleichen Narkotika abhängig sein von der Verteilung zwischen den fettartigen Stoffen einerseits und den übrigen Bestandteilen andererseits, welche Verteilung meistens mit derjenigen zwischen einem Gemisch von fettartigen Substanzen und Wasser verglichen werden kann.

H a n s M e y e r stellte fest, daß die narkotische Wirkung sich mit der Temperatur in gleichem Sinn ändert wie die Verteilung Fett : Wasser.

C. A r c h a n g e l s k y ¹⁾ dehnte die Betrachtungen von O v e r t o n und M e y e r auf die höheren Organismen aus und lenkte besonders die Aufmerksamkeit auf die Bestimmung von Verteilungen im Organismus; er gab zugleich eine Übersicht der in dieser Richtung schon ausgeführten Versuche. Tatsächlich waren die Anschauungen von O v e r t o n und M e y e r nicht ganz neu.

T r a u b e hat in zahlreichen Abhandlungen²⁾ versucht, darzulegen, daß, je stärker die narkotische Wirkung der wäßrigen Lösungen vieler Verbindungen ist, desto größer die Erniedrigung der Oberflächenspannung erscheint. Ein direkter Zusammenhang zwischen Oberflächenspannung und Narkose ist aber ausgeschlossen; nie kann eine Oberflächenspannungswirkung des Mediums sofort Narkose zur Folge haben, diese kann höchstens verursacht werden durch eine bestimmte Verteilung eines Stoffes zwischen Medium und Organismus, welche Verteilung von dem Haftdruck³⁾ abhängig sei.

Weiter haben die Versuche von C z a p e k ⁴⁾ dargetan, daß die Oberflächenspannung und die narkotische Wirkung vieler Substanzen gerade nicht parallel vor sich gehen.

C z a p e k studierte den Einfluß wäßriger Lösungen von Alkoholen und von anderen narkotisch wirkenden Verbindungen auf die Plasmahaut der lebenden Zelle im Zusammenhang mit der Oberflächenspannungserniedrigung, welche von den betreffenden Verbindungen verursacht wird. Das Kriterium bei den Versuchen C z a p e k s ist die Exosmose von Gerbstoffen aus der Zelle. C z a p e k kam zu dem Schlusse, daß die kritische Konzentration (d. h. die Konzentration, bei welcher die Exosmose von Gerbstoff aus der Zelle anzufangen beginnt) von allen einwertigen Alkoholen der Fettreihe mit einem bestimmten Wert der Oberflächenspannung übereinstimmt. Der kritische Oberflächenspannungswert der Alkohole liegt für die untersuchten Pflanzenzellen bei 0,68—0,69 der Oberflächenspannung von reinem Wasser. Nicht nur die Alkohole, sondern auch andere organische Stoffe von meist verschiedener chemischer Natur verursachen in deren wäßrigen Lösungen, soweit sie nicht schon wegen anderer Ursachen in geringeren Konzentrationen toxisch wirken, bei demselben Oberflächenspannungswert Exosmose.

C z a p e k s Meinung ist, daß die Spannungserniedrigung eine auf der osmotisch wirksamen Plasmahaut ausgeübte Wirkung ist, während sich die narkotischen Wirkungen im Innern des Zellplasmas abspielen.

H. M. V e r n o n ⁵⁾ bezweifelt aber den Wert der C z a p e k schen Versuche und weist darauf hin, daß einige von C z a p e k selbst ermittelte Resultate seiner Theorie der Konstanz der Oberflächenspannung der Exosmose verursachenden Flüssigkeiten nicht entsprechen.

In den V e r n o n schen Versuchen und Anschauungen kann ich keinen Beweis sehen für seine Annahme, daß die Exosmosewirkung der meisten von C z a p e k untersuchten Substanzen auf ihrer Auflösung in den Lipoidbestandteilen der Plasmahaut beruht. Ob überhaupt Beziehungen zwischen beiden bestehen, ist vorläufig nicht zu

¹⁾ Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. Bd. 46. 1901. p. 347.

²⁾ Vgl. z. B. T r a u b e, J., Biochem. Zeitschr. Bd. 16. 1909. p. 182.

³⁾ Unter dem Namen „Haftdruck“ einer Verbindung in einem Lösungsmittel versteht T r a u b e die Kraft, mit welcher die Moleküle der gelösten Substanz zufolge molekularer Anziehung durch die Teilchen des Lösungsmittels festgehalten werden. Wenn die Verbindung die Oberflächenspannung des Lösungsmittels erniedrigt, so bestrebt sie sich, in der Oberflächenschicht sich anzuhäufen. T r a u b e sagt dann: „der Haftdruck ist klein“. Wird die Oberflächenspannung des Lösungsmittels aber durch die gelöste Substanz erhöht, so ist der „Haftdruck“ der Substanz im Lösungsmittel groß.

⁴⁾ C z a p e k, F., Über eine Methode zur direkten Bestimmung der Oberflächenspannung der Plasmahaut von Pflanzenzellen. Jena 1911.

⁵⁾ H. M. V e r n o n, Biochem. Zeitschr. Bd. 51. 1913. p. 1.

entscheiden, obgleich die Vernonschen Zahlen wohl in dieser Richtung hinweisen. Fest steht indessen, daß die Exosmose verursachende Wirkung auf die Plasmahaut und die narkotische Wirkung nicht immer gleich sind. Die Czapekschen Versuche können also nie eine Stütze sein für die Traubesche Auffassung von dem Zusammenhang zwischen Oberflächenspannung und narkotischer Wirkung.

Dagegen ist die Löslichkeit in Fetten im Zusammenhang mit der Overton-Meyerschen Theorie wohl im allgemeinen maßgebend für die narkotische Wirkung.

Die Größe der Oberflächenspannung der Plasmahaut wurde durch die kritische, von Czapek festgestellte Konzentration auf 0,68mal der Oberflächenspannung des Wassers bestimmt¹⁾. — Bei seinen Versuchen hatte Czapek aber nicht die Grenzflächenspannung zwischen der betreffenden Flüssigkeit und der Wand des lebenden Protoplasmas, sondern die Oberflächenspannung der umgebenden Flüssigkeit gegen Luft bestimmt. Er meinte nämlich, daß auf Grund der Erfahrung die Grenzspannung zwischen einer bestimmten Lösung und der Plasmahaut sich bei Änderung der Konzentration vollkommen parallel mit der Grenzspannung dieser Lösung gegen Luft verschiebt. H. M. Vernon hat gegen diese Versuchsmethode Einwände gemacht. Er weist darauf hin, daß die Plasmahautspannung gegenüber Flüssigkeiten nicht mit der Wasser-Luftspannung übereinzustimmen braucht. In Zusammenhang mit der Konstanz der Oberflächenspannung der Plasmahaut und der Tatsache, daß einige neutrale Fette in konzentrierten Emulsionen die Oberflächenspannung gerade zu 0,68mal derjenigen des Wassers erniedrigen, kam Czapek zum Schluß, daß gerade solche Fette (Triolein, Rizinolein, Linolein) an dem Zustandekommen der normalen, der konstanten Oberflächenspannung der Plasmahaut beteiligt sind. Weiter beobachtete er, daß es keinen Unterschied gab in der Wirkung vieler kolloiden oberflächenaktiven Lösungen und der Wirkung gewöhnlicher Lösungen der Alkohole usw. in Wasser. Vernon²⁾ hat aber auf die Möglichkeit einer Inkonzanz der Oberflächenspannung, z. B. bei den Cholesterin- und Ölsäureemulsionen bei den Czapekschen Versuchen hingewiesen, weil kein stabiler Zustand erreicht war, weiter auf die Ausnahmestellung des Saponins usw. Die Annahme der Plasmahaut als bloßer konzentrierter Fetteulsion ist unwahrscheinlich, weil dergleichen Emulsionen nicht stabil sind. Wahrscheinlich ist es also, daß eine geringe Quantität fettsauren Alkalis gleichzeitig vorhanden ist, welches die Fettkügelchen mit dünnen Seifenlamellen umhüllt, so daß die Vereinigung der Kügelchen gehindert wird. Durch die Untersuchung der Wirkung der Säuren fand diese Annahme eine weitere Bestätigung. Die Wirkung der Säuren ist abhängig von der Konzentration der Wasserstoff-Ionen; die Fettsäuren wirkten aber stärker als mit deren Dissoziationsgrad übereinstimmt. Dies war auch bei den Versuchen von Loeb³⁾ über die Membranbildung bei den Seeigelleiern der Fall.

Bei der Wirkung der Säuren müssen wir zwei Faktoren unterscheiden, neben der Wirkung der Wasserstoff-Ionen, die Wirkung der ungespaltenen Moleküle. Die letztere kann man vergleichen mit der Wirkung der Alkohole auf die Plasmahaut, während die erstgenannte die Zersetzung des Oleates verursachen wird. Czapek hatte nämlich gefunden, daß diejenige Salzsäurekonzentration, die gerade noch einen schädlichen

Einfluß auf die Zellen ausübt, bei einer $\frac{N}{1200}$ -Natriumoleatlösung noch Zersetzung verursachte. Auf der anderen Seite entspricht eine Natriumoleatlösung, welche nicht mehr Exosmose von Gerbstoff bei Echeveria hervorruft, gleichfalls der Konzentration von $\frac{N}{1200}$. Die Wand des Protoplasmas verhielt sich also wie eine $\frac{N}{1200}$ -Natriumoleatlösung.

Wenn wir von der Annahme ausgehen, daß im Protoplasma mehrere Stoffe anwesend sind, so werden, einem Satze von Gibbs gemäß, diejenigen Stoffe sich in der Grenzschicht anhäufen, welche am meisten die Oberflächenspannung der Lösung erniedrigen, für eine wäßrige Lösung sind dies zumal die fettartigen Substanzen. Die Bildung einer an Lipoiden reichen Membran ist also wahrscheinlich, und dies erscheint in der von Overton und Meyer gegebenen Theorie ausgesprochen. Meyer⁴⁾ sagt: „Unsere physiologischen Beobachtungen lassen sich am besten mit der Annahme vereinigen, daß das Protoplasma die Struktur einer Emulsion besitzt, in welcher alle kleineren Teilchen der Eiweißkolloide mit Lipoidteilchen wie in einem Schaum innig gemischt und hierdurch umhüllt sind. Die Grenzschicht der Oberfläche dieser Emulsion ist mit einer außerordentlich dünnen Lamelle von Lipoidsubstanzen überzogen.“

¹⁾ Vgl. auch die Beobachtungen von Czapeks Schüler B. Kisch (s. u.).

²⁾ l. c. p. 14.

³⁾ Biochem. Zeitschr. Bd. 15. p. 254; Bd. 16. p. 182; Bd. 23. p. 93.

⁴⁾ 7. Intern. Congr. of appl. Chem. June 1909. Sect. IV. A. 2. Physiol. Chem. and Pharmacol. p. 37.

Von zahlreichen Forschern ist auf Grund experimenteller Arbeiten die Lipoidtheorie einer Kritik unterzogen worden. Nur einige der betreffenden Arbeiten sollen hier behandelt werden, während andere, bei der Übersicht der Resultate meiner Versuche der Gegenstand einer kurzen Besprechung sein werden.

Die Kritik von Traube muß meines Erachtens nur als ein Versuch betrachtet werden, um die bisher mittels der Lipoidtheorie erklärten und zahlreiche andere Erscheinungen in Zusammenhang zu bringen mit der von der molekularen Anziehung verursachten Oberflächenspannung resp. dem „Haftdrucke“¹⁾.

Ernst Küster lenkte die Aufmerksamkeit darauf hin, daß eine beträchtliche Zahl von Sulfosäurefarbstoffen, welche unlöslich in den Lipoidbestandteilen sind und der Overton'schen Theorie gemäß also nicht eindringen dürfen, tatsächlich leicht in die Pflanzenzellen eintreten²⁾. Mittels der Plasmolysenmethode bewies Küster, daß die betreffenden Farbstoffe tatsächlich in der lebenden Zelle vorhanden waren und also die Wand des Protoplasmas passiert hatten.

W. J. Osterhout³⁾ kam, im Gegensatz zu Overton, zu dem Resultat, daß viele Salze mit Bestimmtheit in die lebende Zelle hineingingen, weil die von den betreffenden Lösungen verursachte Plasmolyse nicht dauerhaft war. Zu gleicher Zeit fand er, daß die betrachteten Pflanzenzellen noch Lebenseigenschaften zeigten, so daß der „Tod“ als Ursache des Eindringens der untersuchten Salze außer Betracht bleiben konnte. Osterhout kam, da alle von ihm untersuchten Salze in die Zelle hineingingen, zu dem Schluß, daß die Lipoidlöslichkeit hierfür gewiß nicht maßgebend sein konnte. Im Zusammenhang hiermit kommt er zur Annahme, daß die Wand des Protoplasmas nicht lipoidartiger, sondern eiweißartiger Natur sein dürfte.

Viele der obengenannten Einwände sind schon von R. Höber⁴⁾ besprochen worden. Seine Meinung ist, daß man mit der Annahme einer Lipoidhaut als Wand des Protoplasmas zur Erklärung des Stoffwechsels nicht auskommen kann und daß dies auch nicht von den Begründern dieser Theorie bezweckt wurde. R. Höber⁵⁾ sagt: „Die meisten Gegner der Lipoidtheorie sind nur von vornherein mit der falschen Voraussetzung an sie herangetreten, daß sie eine vollständige Erklärung für den physiologischen Stoffaustausch geben soll. Davon ist sie aber weit entfernt.“

Beim Eindringen von in Fett nicht löslichen Farbstoffen muß Rechnung gehalten werden mit deren Löslichkeit in Wasser, und beim Nichteindringen von in Fett löslichen Verbindungen ist es von Bedeutung, ob sie wohl eine genügende Löslichkeit in Wasser haben. Im vorhergehenden hat im allgemeinen die Schnelligkeit des Eindringens der verschiedenen Stoffe im Organismus und speziell die Lipoidtheorie deren zahlreichen Anwendungen⁶⁾ unsere Aufmerksamkeit gefragt.

Auch über das zweite Stadium des Stoffwechsels, bzw. über die chemischen Änderungen, welcher die im Organismus eingedrungenen Verbindungen unterliegen, sind zahlreiche Untersuchungen ausgeführt. Einige der wichtigsten werden hier besprochen werden.

Daß organische Säuren, besonders aliphatische, für mehrere Organismen als Nahrung geeignet sind, ist schon von mehreren Forschern festgestellt.

Pasteurs biochemische Methode zur Spaltung von racemischen Gemischen beruhte hierauf. Meistens wurde nur mit den Salzen, z. B. mit den Ammoniumverbindungen der Säuren gearbeitet, und war die organische Säure nicht die einzige Kohlenstoffquelle. Was mit den organischen Stoffen geschieht, die wir dem Organismus als Nahrung darbieten, ist gleichfalls Gegenstand vieler Untersuchungen gewesen. Ich werde hier einige der schon bekannten Untersuchungen zitieren, besonders in der aromatischen Reihe, da ich mich im Anfang meiner Versuche hauptsächlich mit aromatischen Verbindungen beschäftigt habe.

Zumal E. Baumann hat auf diesem Gebiete viele Untersuchungen ausgeführt. Er untersuchte das Verhalten der Para-Oxybenzoesäure bei Verwesungsprozessen. Es war besonders der Zusammenhang dieser Säure mit Tyrosin (Para-Oxyphenylalanin: $\text{HO.C}_6\text{H}_4.\text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$, der Ausgangspunkt für diese Versuche war.

¹⁾ Traube, J., Der Haftdruck. Beitrag zur Theorie der Lösungen. (Verhandl. d. Deutschen Physikal. Gesellsch. Bd. 10. 1908. p. 880.)

²⁾ Über die Aufnahme von Anilinfarben in lebende Pflanzenzellen. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1911. Bd. 50. p. 261—281; Ref. Naturwiss. Rundsch. Jahrg. 32. 1912. p. 252.)

³⁾ Die Permeabilität lebender Zellen gegenüber Salzen in reinen und ausgeglichenen Lösungen. (Science. N. S. Vol. 34. 1911. p. 187.) Die Permeabilität des Protoplasmas gegenüber Ionen und die Theorie des Antagonismus. (Science. N. S. Vol. 35. 1912. p. 112.)

⁴⁾ Die physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe. 3. Aufl. Leipzig 1911. p. 226—266.

⁵⁾ R. Höber, l. c. p. 227.

⁶⁾ Vgl. z. B. Hamburger, H. J., Osmotischer Druck und Ionenlehre. III.

Beim Erwärmen der Para-Oxybenzoesäure mit Pankreassaft in verdünnter Lösung, während einiger Tage bei 40°, wurde Phenol und Kohlensäure nachgewiesen¹⁾. Diese Beobachtung konnte nach Baumann auch eine einfache Erklärung für das Auftreten von phenolartigen Verbindungen im Harn nach der Fütterung mit Fleisch geben.

Baumann und Herter²⁾ wiesen für die Para- und die Meta-Oxybenzoesäure nach, daß immer ein Teil dieser Säuren unverändert passiert und daß die Para-Oxybenzoesäure für einen sehr geringen Teil im tierischen Organismus zersetzt wird, während Phenol resp. Phenolschwefelsäure gebildet wird.

Später wiesen Baumann und Brieger nach, daß das bei der Verwesung von Eiweiß entstandene „Phenol“ hauptsächlich aus Para-Kresol und nur für einen geringen Teil aus Phenol bestand³⁾.

Auch Para-Kresol wurde auf sein Verhalten im tierischen Organismus untersucht. Baumann fand, daß es bei Hunden zum größten Teil im Harn als Para-Kresolschwefelsäurealkali erschien⁴⁾. Weiter wandelte sich immer ein geringer Teil um in Para-Oxybenzoesäure⁵⁾. Aus 12 g Para-Kresol wurde in dieser Weise 1 g Para-Oxybenzoesäure erhalten. Aus dieser Para-Oxybenzoesäure kann, wie oben angegeben, wieder Phenol entstehen.

Weyl⁶⁾ hatte schon aus reinem Tyrosin durch Verwesung Para-Kresol erhalten.

Durch diese Untersuchungen war also ein direkter Zusammenhang zwischen Phenol, Para-Kresol und Tyrosin gelegt. Um die Verwesung zu verursachen, benutzte Weyl bei der genannten Untersuchung sogen. „Cloakenschlamm“. Das gebildete Para-Kresol verschwand bei fortgesetzter Verwesung, d. h. es wurde in andere Verbindungen übergeführt.

In Analogie mit der früher von ihm beobachteten Bildung von Phenol- und Kohlensäure aus Para-Oxybenzoesäure, fand Baumann später, daß auch die Para-Oxyphenylelessigsäure ($\text{OHC}_6\text{H}_4\text{CH}_2\text{COOH}$) bei Verwesungsprozessen sehr leicht in Para-Kresol und Kohlensäure umgewandelt werden konnte⁷⁾.

Schon früher hatte E. Baumann festgestellt⁸⁾, daß aus Tyrosin durch Verwesung, Hydroparakumarsäure ($\text{OHC}_6\text{H}_4\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$) neben Ammoniak entstehen kann.

Aus Hydroparakumarsäure entstanden bei Verwesungsprozessen wieder Para-Oxyphenylelessigsäure, Para-Kresol und Phenol⁹⁾.

Baumann betrachtete die Hydroparakumarsäure als erstes Spaltungsprodukt des Tyrosins. Er vergleicht es mit der Bildung der Bernsteinsäure aus Asparagin. Hiermit in Übereinstimmung stellt er sich die Änderung, welcher Tyrosin im Organismus unterliegt, stufenweise vor. Vielleicht ist es besser, zu sagen, daß aus Tyrosin durch fortwährende Spaltungen, Oxydationen usw. zahlreiche Verbindungen, wie Hydroparakumarsäure, Para-Kresol, Para-Oxybenzoesäure und Phenol entstehen können.

M. Nencki und P. Giacomini zitieren in ihrer Arbeit: „Über die Oxydation der aromatischen Kohlenwasserstoffe im Tierkörper“¹¹⁾ einige damals schon bekannte Umwandlungen von aromatischen Kohlenwasserstoffen im Organismus, z. B.:

Benzol \rightarrow Phenol,
Toluol \rightarrow Benzoesäure,
Xylol \rightarrow Toluylsäure.

Auch das Phenol wurde im Organismus für einen Teil oxydiert; hierbei entstanden Hydrochinon und Brenzcatechin.

Die Bildung der Homogentisinsäure $\text{C}_6\text{H}_3(\text{OH})_2\text{CH}_2\text{COOH}$ (1, 4, 5) bei der Alkaptonurie ist allgemein bekannt. Nahrungsversuche haben dargetan, daß wir die Bildung dieser Säure dem Tyrosin zuschreiben müssen. Die Weise, in welcher dies stattfindet, ist für den Chemiker noch nicht klar¹¹⁾.

¹⁾ Baumann, E., Zur Kenntnis der aromatischen Substanzen des Tierkörpers. (Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 1. p. 65.)

²⁾ Baumann, E., u. Herter, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 1. p. 262.

³⁾ Baumann, E., u. Brieger, L., Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 3. p. 149.

⁴⁾ Baumann, E., u. Herter, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 1. p. 247.

⁵⁾ Baumann, E., Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 3. p. 250.

⁶⁾ Weyl, Th., Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 3. p. 312.

⁷⁾ Baumann, E., Ber. 13. p. 381.

⁸⁾ Baumann, E., Ber. 12. p. 1450.

⁹⁾ Baumann, E., Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 4. p. 304.

¹⁰⁾ Nencki u. Giacomini, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 4. p. 325.

¹¹⁾ Vgl. Hammerstein, Olof, Lehrb. d. physiol. Chem. 1910 und Röhm ann, Biochem. Berlin 1908. p. 427 ff.

F. Fraetta-Mosca¹⁾ isolierte aus Stallmist einen Mikroorganismus, der Tyrosin zersetzte, während der betreffende Organismus sich entwickelte. Nach einigen Tagen war in diesem Falle Parahydrokumarsäure nachzuweisen.

Die Parahydrokumarsäure, die Para-Oxybenzoësäure und auch die Benzoësäure wurden vom Organismus bei dessen Entwicklung zersetzt. Orto- und Meta-Benzoësäure wurden dagegen nicht angegriffen.

Fowler, Andern und Lockett²⁾ beobachteten die Oxydation von Phenol durch bestimmte Bakterienarten. Sie arbeiteten mit Reinkulturen. Die Versuche waren aber nicht einwandfrei, da immer größere oder kleinere Quantitäten anderer Kohlenstoffquellen sich in den betreffenden Nährmedien voranden. Um einwandfreie Resultate zu erhalten, mußte mit Phenol als einziger Kohlenstoffquelle gearbeitet werden. Dieses habe ich bei meinen Versuchen erreicht, da ich eine ausgezeichnete Entwicklung von *Penicillium glaucum* beobachtete mit Phenol als einziger Kohlenstoffquelle. Schließlich noch einige interessante Umwandlungen im Organismus, z. B. die von Friedmann beobachtete Umwandlung von Hexahydrobenzoësäure in Benzoësäure. Die Bildung von Benzoësäure aus Chinasäure ist schon lange bekannt.

Prof. Beijerinck³⁾ wies das Entstehen von Protocatechusäure aus Chinasäure bei der Entwicklung von bestimmten Bakterien nach. Weiter hat man wiederholt das Öffnen des Benzolringes unter dem Einfluß des tierischen Organismus beobachtet, z. B. Jaffé (1909): Benzol \rightarrow Muconsäure; Embden (1908): Dioxyphenyllessigsäure \rightarrow Acetylessigsäure; Paul Meyer (1908): Inosit \rightarrow Milchsäure; Friedmann (1912): Naphtylbrenztraubensäure \rightarrow Benzoësäure.

Ich habe bei dieser historischen Übersicht besonders auf 2 Faktoren die Aufmerksamkeit gelenkt, welche beide für die Entwicklung des Organismus maßgebend sein können.

1. Das Eindringen der Stoffe aus dem umgebenden Medium, welches besonders von den Eigenschaften der Scheidungswand in Rücksicht auf die betreffenden Substanzen bedingt wird.

2. Die Umwandlungen, welchen die schon eingedrungenen Substanzen unterliegen.

Experimenteller Teil.

§ 1. Die Untersuchungsmethode.

Die betreffende organische Verbindung wurde in möglichst reinem Zustande ohne Zufügung anderer kohlenstoffenthaltender Substanzen mit einer geringen Menge Pilzsubstanz geimpft und fortwährend beobachtet, wie der Pilz sich entwickelte, wenn zu gleicher Zeit eine genügende Quantität anorganischer Nahrung anwesend ist.

Dazu wurde eine abgewogene Quantität der organischen Verbindung in 50 ccm Leitungswasser gelöst und neben den darin anwesenden anorganischen Verbindungen immer 0,05 Proz. NH_4Cl , 0,05 Proz. KH_2PO_4 und 0,02 Proz. MgSO_4 (Aq-frei) zugefügt.

Zur Entfernung von Beimischungen fremder Elemente waren keine speziellen Vorsorgen getroffen. So habe ich später das Vorhandensein des Mangans im benutzten Magnesiumsulfat feststellen können. Die so erhaltenen Lösungen wurden in Erlenmeyer-Kolben von Jenaglas und 200 ccm Inhalt gebracht, während die Aëration genügend war. Nach der Sterilisation wurde nach dem Erkalten mit Sporen von *Penicillium glaucum* geimpft. Diese Form wurde erhalten durch Isolation auf Malzagar aus der Pilzsubstanz, die beim Stehen einer Para-Oxybenzoësäurelösung an der Luft entstanden war.

Bei 21—22° wurde im Dunkeln kultiviert. Wegen der großen Zahl der Versuche war es nicht möglich, immer im Thermostat zu arbeiten, so daß

¹⁾ Gazz. Chim. ital. 40. I. p. 86.

²⁾ Proc. Roy. Soc. London. Ser. B. Vol. 83. 1911. p. 149.

³⁾ Beijerinck, M. W., Folia microbiol. I. 1912. S. a. Löw, Ber. Bd. 14. p. 450; Emmerling u. Abderhalden, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 10. 1903. p. 338.

bisweilen auch bei Zimmertemperatur kultiviert wurde. Im Anfang wurde jeden Tag, später mit größeren Zwischenräumen mit dem Auge beobachtet.

Um den Einfluß der Karboxyl- und Hydroxylgruppe festzustellen, wurden an erster Stelle die Phenole und die Polyoxybenzoësäuren in Quantitäten, die mit denjenigen der Monooxybenzoësäuren möglichst vergleichbar waren, untersucht.

Die benutzten Säuren wurden wie folgt erhalten:

§ 2. Darstellung der Oxybenzoësäuren.

a) Salizylsäure;

b) Para-Oxybenzoësäure.

Diese Säuren wurden mittels der Kolbeschen Synthese aus Phenolnatrium resp. Phenolkalium und Kohlensäure erhalten.

Der Schmelzpunkt der Salizylsäure war 156°. Eine Molekulargewichtsbestimmung mittels Titrieren mit Baryt gab 138.

Der Schmelzpunkt der Para-Oxybenzoësäure war 210—211°. Mol.-Gew. 156 ($C_6H_4OHCOOH + 1 H_2O$).

c) Meta-Oxybenzoësäure. Die dritte dieser 3 isomeren Säuren wurde durch Kalischmelzen des Sulfonierungsproduktes der Benzoësäure dargestellt¹⁾.

Der Schmelzpunkt war 198—199.

d) Brenzkatechinkarbonsäure.

Die Darstellung nach der von Prazmarrer²⁾ gegebenen Vorschrift lieferte nur geringe Ausbeuten. Deshalb wurde die Säure aus Guajakolkarbonsäure durch Abspaltung der CH_3 -Gruppe mittels $AlCl_3$ dargestellt³⁾. Durch Erhitzen auf ca. 120° wurde die aus Benzol umkristallisierte Säure wasserfrei erhalten.

e) 2—5 Dioxybenzoësäure (Gentisinsäure).

Die Methode zur Darstellung aus Bromsalizylsäure durch Kalischmelzen gab keine guten Resultate. Dagegen wurde die Säure in guter Ausbeute erhalten durch Oxydation von Salizylsäure in alkalischer Lösung⁴⁾. Die Säure kristallisiert wasserfrei.

f) Darstellung von 2, 4-Dioxybenzoësäure (β -Resorzylsäure). Diese Säure wurde erhalten durch Erhitzen von Resorzin mit Kaliumbikarbonat in wässriger Lösung⁵⁾. Die reine, aus Wasser umkristallisierte Säure enthielt $\frac{1}{2}$ Mol. Kristallwasser.

g) 2, 6-Dioxybenzoësäure.

Ich versuchte vergebens, diese Säure nach der Vorschrift von Brunner durch Erhitzen von Resorzin mit $NaHCO_3$ im Glycerinmedium darzustellen.

Ich erhielt hierbei hauptsächlich die β -Resorzylsäure. Prof. Brunner in Innsbruck hatte aber die Güte, mir eine kleine Quantität dieser Säure zu übersenden.

h) 2, 3, 4-Trioxibenzoësäure (Pyrogallokarbonsäure) und 2, 4, 6-Trioxibenzoësäure (Phloroglucinkarbonsäure).

Diese beiden Säuren wurden resp. aus Pyrogallol⁶⁾ und Phlorogluzin⁷⁾

¹⁾ Offermann, Annalen. Vol. 280. 1894. p. 1.

²⁾ Prazmarrer, Sitzungsber. d. Wiener Akad. 1906.

³⁾ Bezüglich der Ausführung dieser Methode verweise ich nach meiner Dissertation.

⁴⁾ Vgl. Friedländer, P., IV. 1894/97. p. 127. No. 81297. u. p. 126. No. 81068.

⁵⁾ Bistrzycki, A., u. v. Kostanecki, St., Bd. 18. 1885. p. 1983.

⁶⁾ v. Kostanecki, St., Zur Einführung der Carboxylgruppe in die Phenole. (Ber. Bd. 18. 1885. p. 3202.)

⁷⁾ Brunner, K., Über den chemischen Prozeß der Synthesen durch die Aufnahme der Kohlensäure. (Ann. d. Chem. Bd. 351. 1907. p. 313.)

mittels KHCO_3 erhalten. Bei der Bestimmung des Molekulargewichtes der Phlorogluzinkarbonsäure in wässriger Lösung konnte ich aber feststellen, daß schon unter diesen Umständen beträchtliche Quantitäten Kohlensäure abgespalten werden. Die übrigen für die Untersuchung benutzten Verbindungen entstammen der Sammlung des Laboratoriums. Von deren Reinheit überzeugte ich mich meistens durch die Bestimmung des Schmelzpunktes, bei den Säuren wurden auch noch das Molekulargewicht bestimmt.

§ 3. Aromatische Verbindungen als Kohlenstoffquelle für *Penicillium glaucum*.

Die Resultate dieser Versuche findet man in Tabelle I.

Aus diesen Versuchen können wir schließen, daß die Para- und Meta-Oxybenzoësäure, 3, 4-Dioxybenzoësäure und 3, 4, 5-Trioxibenzoësäure als einzige organische Nahrung für *Penicillium glaucum* dienen können.

Die Kohlensäure der Luft kann nämlich, wie zu erwarten war (vgl. auch Versuch Nr. 29) unter den genannten Umständen keine Entwicklung verursachen. Während die vier oben genannten Säuren als Kohlenstoffquelle dienen können, geben Salizylsäure und Pyrogallolkarbonsäure keine Entwicklung. Diese Verbindungen enthielten gerade die Hydroxyl und Karboxylgruppe in der Orthostellung. Doch fand ich später, daß wir hier nicht mit einem allgültigen Satz zu tun hatten, denn die 2, 4-Dioxybenzoësäure gab wohl Entwicklung (Nr. 15). Der Versuch mit der Phlorogluzinkarbonsäure (No. 19) ist nicht überzeugend, da das Phlorogluzin (Nr. 9), das sich in einer wässrigeren Lösung dieser Säure vorfindet, auch als Kohlenquelle dienen kann. Doch gehen einige Schlüsse allgemeiner Bedeutung aus den Resultaten dieser Versuche hervor.

1. Eine Vergrößerung der Anzahl Hydroxylgruppen hat einen für den Nährwert günstigen Einfluß; man vergleiche dazu die Di- und Trioxibenzole mit dem Phenol, die Oxysalizylsäuren mit der Salizylsäure usw.

2. Dasselbe gilt auch für eine Vermehrung der Anzahl Karbonylgruppen; vgl. z. B. die Orthophtalsäure mit der Benzoësäure.

3. Die Methyl- und auch die Methylengruppe haben einen für die Entwicklung schädlichen Einfluß. Man vergleiche dazu Para-Oxybenzoësäuremethylester mit der Para-Oxybenzoësäure, die Guajakolkarbonsäure mit der Pyrocatechinkarbonsäure, die Anissäure mit der Para-Oxybenzoësäure, Anisol mit Phenol und Piperonylsäure mit Protocatechusäure.

Chassevant und Garnier haben auch die meisten der in Tabelle I genannten Verbindungen untersucht¹⁾. Sie stellten die giftige Wirkung dieser Stoffe auf dem indischen Schweinchen (Cobaye) fest. Man kann erwarten, daß die mit dergleichen höheren Tieren erhaltenen Resultate, sich in einigen Hinsichten mit den meinigen vergleichbar machen, denn schließlich wird man doch nicht mit einer Wirkung der Verbindung auf dem ganzen Individuum, sondern mit einer primären Wirkung auf einigen Zellen zu machen haben.

Tatsächlich fanden diese französischen Forscher, daß von den drei isomeren Oxybenzoësäuren die Orthooxybenzoësäure am giftigsten war; die Meta- und Para-Isomere waren aber nur wenig verschieden. Von den Dioxybenzolen waren Brenzcatechin am giftigsten, Resorzin am wenigsten giftig.

¹⁾ Chassevant u. Garnier, Rapport entre la constitution chimique des corps et leur toxicité dans la série aromatique (benzène et ses dérivés). (Arch. intern. de Pharmacodyn. et de Thér. T. 14. 1905. p. 93.)

Tabelle 1.
Aromatische Verbindungen.

No.	Untersuchte Substanz Namen	Konz. in %	Entwicklung nach der unten angegebenen Anzahl Tagen ¹⁾					Bemerkungen
1	Para-Oxybenzoesäure	0,3	2:	+	++	7: +++ 18: +++ 18: +++	14: +++ 28: +++ 28: +++	Kontrolle
2	Meta-Oxybenzoesäure	0,4						
3	Ortho-Oxybenzoesäure	0,1						
4	Phenol	$\pm 0,14$						
5	Brenzcatechin	$\pm 0,07$	2:	—	+	9: ++ 8: ++ 9: ++	40: ++ 50: ++ 12: ++	Gelbgrüne Lösung
6	Resorzin	0,2		5:	++		50: ++	
7	Hydrochinon	0,2	2:	—	—	9: ++	50: ++	Braunrote Lösung
8	Pyrogallol	0,2	2:	—	—	9: ?	50: ++	Sehr dunkle Lösung
9	Phlorogluzin	0,3	7:	+			30: ++	
10	Benzoesäure	0,3					60: —	
11	o-Phthalsäure	0,15	3:	—	+	6: ++ 9: ++	7: ++	Braune Lösung
12	2,3 Dioxibenzoessäure	0,16	3:	—	+	9: ++	60: +	
13	2,5	0,18				19: —		
14	2,6	0,1	5:	—	—	11: +		
15	2,4	0,2	3:	+	++	18: ++ 18: ++ 18: ++	28: ++ 28: ++ 28: ++	Orangebraune Lösung
16	3,4	1,0						
17	3,4,5 Trioxybenzoessäure	1,0				18: ++ 18: ++ 18: ++	28: ++ 28: ++ 28: ++	Dunkel gefärbte
18	2,3,4	$\pm 0,3$				21: ++	28: +	Braune
19	2,4,6	0,16	2:	—	+			
20	Guajakalkarbonensäure	0,015	3:	+	++			
21	p-Oxybenzoesäuremethylether	gesättigte Lösung		10:	—			
22	Anissäure	id.	2:	—	+	11: ++		
23	Anisol	id.		7:			60: —	
24	Aspirin	0,3					60: —	
25	Chininsäure	0,2	2:	+	+++			
26	Piperonylsäure	gesättigte Lösung		5:++	+++		60: —	
27	Opianssäure	id.					60: —	
28	Tannin	0,2	2:	+	++	6: +++		
29	Kontrolle	—		4:	++		60: —	Die Kohlensäure der Luft wird nicht assimiliert.

¹⁾ Die mit dem Auge beobachtete Entwicklung wird angegeben mittels +, ++, +++ usw. Mittels — wird angegeben, daß gar keine Entwicklung stattfand.

D u g g a n ¹⁾ fand, daß Brenzcatechin auf eine B-subtiliskultur den meist hemmenden Einfluß ausübte, Resorzin war weniger schädlich und Hydrochinon wiederum weniger als Resorzin.

C h a s s e v a n t und G a r n i e r beobachteten, daß Phlorogluzin weniger giftig war als Pyrogallol.

Einen Augenblick kam ich zur Auffassung, in Zusammenhang mit diesen Tatsachen, daß bei der Anwesenheit von zwei negativen Gruppen (HO und COOH, zwei Hydroxylgruppen usw.) als Substituenten im Benzolkern die Orthoverbindung am meisten wirksam sein sollte, während die Sachlage bei zwei entgegengesetzten Gruppen (z. B. Methyl und Hydroxyl) gerade umgekehrt sein sollte.

M e i l i ²⁾ hat nämlich in 1891 beobachtet, daß bei Kaninchen das Parakresol die giftigsten Eigenschaften zeigte, dies wurde von T o l l e n s ³⁾ bestätigt. Die Wirkung des Meta- und Orthokresols war nur wenig verschieden bei diesen Versuchen, welche mit Katzen, Kaninchen, Mäusen und Fröschen ausgeführt wurden. Nach C h a s s e v a n t u. G a r n i e r war Orthokresol am wenigsten, Para- und Metakresol am meisten giftig. Wenn auch diese Tatsachen und zahlreiche andere Versuche⁴⁾ nicht in allen Hinsichten übereinstimmen, sieht man doch, daß die physiologischen Unterschiede zwischen den drei Kresolen stark abweichen von den Oxybenzoësäuren.

Ich glaube aber nicht, daß der oben von mir angegebene Gegensatz zwischen negativen und positiven Gruppen neue Gesichtspunkte geben wird, und jetzt schon kennt man viele Ausnahmen. So ist z. B. Para-Nitrophenol giftiger als Meta-Nitrophenol und diese Verbindung wiederum giftiger als Ortho-Nitrophenol⁵⁾. Schließlich geht aus der Tabelle 1 hervor, daß viele Antiseptica, wie Phenol, in geringen Konzentrationen eine ausgezeichnete Kohlenstoffquelle sein können. Weiter sieht man, daß die antiseptische Wirkung vieler Verbindungen, wie z. B. der Gallussäure⁶⁾, nur äußerst schwach sein kann. Dieses Resultat war in Übereinstimmung mit den Untersuchungen von v a n T i e g h e m ⁷⁾ über die Zersetzung des Tannins unter dem Einflusse von *Penicillium glaucum*, wobei Gallussäure entstand. Aus den Versuchen mit Phenol und dergleichen Verbindungen ging schon hervor, daß besonders die Konzentration für die antiseptische Wirkung ein außerordentlich wichtiger Faktor ist. Um eine Einsicht zu erhalten in der Natur der hemmenden Wirkung auf *Penicillium*, mußten zahlreiche Konzentrationen der betreffenden Verbindungen untersucht werden. Nur dadurch war es möglich, die für *Penicillium* schwer angreifbaren Stoffe von den narkotisch wirksamen zu unterscheiden.

§ 4. Hemmende Wirkung mehrerer Verbindungen auf die Entwicklung von *Penicillium glaucum*.

Eine 0,3 proz. Lösung von Para-Oxybenzoësäure in Leitungswasser wurde nach der Zufügung der notwendigen anorganischen Nahrungsquellen geimpft. Jeden Tag wurde die Entwicklung mit dem Auge beobachtet und sorgfältig verglichen mit analogen Kulturflüssigkeiten mit unterschiedenen Konzentrationen der auf ihre hemmenden Wirkung zu prüfenden Verbindungen.

¹⁾ D u g g a n, Am. chem. Journ. Vol. 7. 1885—86. p. 62.

²⁾ M e i l i [Diss.] Bern 1891.

³⁾ T o l l e n s, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. Bd. 52. 1905. p. 220.)

⁴⁾ Vgl. z. B. S e y b o l d, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 29. 1898. p. 395.

⁵⁾ F r ä n k e l, S., Die Arzneimittelsynthese.

⁶⁾ Vgl. R i d e a l, S a m u e l, Disinfection and Desinfectants. London 1898.

⁷⁾ v a n T i e g h e m, Compt. rend. T. 65. p. 1091.

Meistens sah man bei einer bestimmten Konzentration gar keine oder nur geringe Entwicklung. Die Genauigkeit dieser Methode war überraschend. Abweichungen wurden fast nie beobachtet. Bei einer Serie von Versuchen wurde selbstredend immer mit derselben Sporensubstanz geimpft. Bisweilen benutzte ich diese Methode, um die Quantität der zugefügten Verbindung zu bestimmen, z. B. der Salizylsäure¹⁾.

Da die Zufügung schon geringer Quantitäten Salizylsäure die Entwicklung von *Penicillium glaucum* auf einer 0,3 proz. Oxybenzoësäurelösung hemmt (Tabelle 2 A) war die Nichtentwicklung auf einer 0,1-proz. Salizylsäurelösung (Tabelle 1) erklärt. In den Versuchen findet man wieder die schädliche Wirkung der Methylgruppe. Die Orthokresotinsäure wirkt stärker hemmend als die Salizylsäure (Tabelle 2 B), die Toluylsäuren sind wirksamer als die Benzoësäure (Tabelle 2 C). So fanden auch Dunstan und Bloch²⁾, daß die aus dem rohen Phenol erhaltene Salizylsäure eine stärkere antiseptische Wirkung ausübte als die aus natürlichen Produkten erhaltene. Dies mußte einer Beimischung von zwei fremden Säuren, welche von Dunstan und Bloch als Ortho- und Metakresolsäure identifiziert wurden, zugeschrieben worden. Diese Verunreinigungen wurden verursacht durch ein Kresolgehalt des rohen Phenols. Für meine Versuche mußte ich also sorgfältig gereinigte Para-Oxybenzoësäure benutzen. So arbeitete ich bei einer Versuchsreihe mit einem Para-Oxybenzoësäurepräparate des Handels; die hemmende Wirkung der Salizylsäure war bei diesen Versuchen scheinbar viel kräftiger wie sonst. Dies wurde verursacht durch das Vorhandensein geringer Quantitäten Salizylsäure, welche ich auch mittels chemischer Methoden nachweisen konnte. Es gab also Verbindungen wie Para- und Meta-Oxybenzoësäure, Resorzin usw., die als einzige Kohlenstoffquelle dienen können, und Substanzen wie Salizylsäure und Benzoësäure, als Nährstoff ungeeignet, welche zu gleicher Zeit einen hemmenden Einfluß auf die Entwicklung auf Kosten einer anderen Kohlenstoffquelle ausüben.

Die Grenzen zwischen beiden Gruppen wurden aber fortwährend weniger scharf; Verbindungen wie Phenol verhielten sich bei niedrigen Konzentrationen wie die Para-Oxybenzoësäure, während in höheren Konzentrationen diese Verbindungen sich wie die Glieder der anderen Gruppe (Salizylsäure, Benzoësäure usw.) verhielten.

Der Zusammenhang wurde aber noch größer, da sogar größere Konzentrationen der Paraoxybenzoësäure auch einen schädlichen Einfluß ausübten und dagegen sehr niedrige Konzentrationen von stark hemmenden Substanzen Entwicklung veranlaßten. Auch Salizylsäure kann in niedrigen Konzentrationen als einzige Kohlenstoffquelle dienen.

Tabelle 2.

Hemmende Wirkung, ausgeübt von verschiedenen Verbindungen auf die Entwicklung von *Penicillium glaucum* in Lösungen mit 0,15 g p-Oxybenzoësäure und der notwendigen anorganischen Nahrung.

A. Hemmende Wirkung von Salizylsäure.

Quantität in mg	2,3	4,6	6,8	8,2	10,5	13,2
Entwicklung nach 3 Tagen	++	++	+	?	—	—
„ „ 4 „	+++	++	++	+	?	—
„ „ 6 „	+++	+++	++	+	+	?

¹⁾ Böeseken, J. u. Waterman, H. J., *Proceed. koninkl. Akad. v. Wetenschappen*, Amsterdam. 1912. p. 604.

²⁾ *Journ. Chem. Soc.* 1891.

Tabelle 2 (Fortsetzung).

B. Vergleichung der hemmenden Wirkung von Salizylsäure, Benzoösäure, o-, m- und p-Toluylsäure. No. 1, 2, 3, 4, 5 und 6 enthalten nur die in a angegebenen Kohlenstoffverbindungen, No. 7 bis 27 außerdem noch 0,15 g p-Oxybenzoösäure.

a						b					c						
No. 1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
2,5 mg p-Oxybenz.	2 mg o-Toluyls.	2,4 mg m-Toluyls.	2 mg p-Toluyls.	2 mg Benzoös.	2 mg Salizyls.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
No.	7	8	9	10	11	Saliz.-säure	7	8	9	10	11	Saliz.-säure	7	8	9	10	11
Salizyls. (in mg)	nichts Kontr.	1,0	7,8	7,8	13,6	Saliz.-säure	zieml. Entwickl.	<7	<8	<9	?	Saliz.-säure	Stark	=7	<8	<9	+
Benzoösäure (in mg)		12	13	14	15	Benzoösäure	<8	12	13	14	15	Benzoösäure		<8	<9	<10	Anfang
		1,0	1,8	6,4	11,9					=10	—						
o-Toluylsäure		16	17	18	19	o-Toluyls.		16	17	18	19	o-Toluyls.		16	17	18	19
		1,0	2,0	8,0	13,0			=12	=13	<14	—			=12	=13	=14	—
m-Toluylsäure		20	21	22	23	m-Toluyls.		20	21	22	23	m-Toluyls.		20	21	22	23
		1,0	2,0	8,0	13,0			=16	=20	—	—			<16	=17	—	—
p-Toluylsäure		24	25	26	27	p-Toluyls.		24	25	26	27	p-Toluyls.		24	25	26	27
		1,0	2,0	8,0	13,0			=20	<21	—	—			>20	<21	—	—

¹⁾ Nach 17 Tagen zeigten No. 1 bis 6 geringe Entwicklung, No. 1 aber am geringsten.

Tabelle 2 (Fortsetzung).

C. Vergleichung der hemmenden Wirkung von Salizylsäure und o-Kresotinsäure.

1. Salizylsäure:					
Quantität in mg	1,3	2,2	5,1	8,7	
Entwicklung nach 5 Tagen . . .	+++	+++	++	+	
2. o-Kresotinsäure:					
Quantität in mg	1,3	2,1	5,0	8,1	
Entwicklung nach 5 Tagen . . .	++	+	?	—	

Zwischen der physiologischen Wirkung der Salizylsäure und der Paraoxybenzoësäure gibt es nur quantitative und keine qualitativen Unterschiede. Aus dieser Tatsache können wir mit großer Wahrscheinlichkeit schließen, daß einerseits die der Entwicklung von *Penicillium glaucum* verursachenden Faktoren, andererseits die hemmende Wirkung auf die Entwicklung aus demselben Gesichtspunkte betrachtet werden müssen. Diese Vermutung fand bald Bestätigung (s. § 5).

§ 5. Einfluß der Konzentration.

Ich beobachtete, daß sehr kleine Quantitäten einer in größeren Konzentrationen wenig hemmenden Substanz, weniger rasch Entwicklung veranlassen, als gleiche Quantitäten einer, bei höheren Konzentrationen stark hemmenden Verbindung (Tabelle III).

Tabelle 3.

Kleine Konzentrationen Gallussäure und Para-Oxybenzoësäure.

	Milligramm pro 50 ccm der Kulturflüssigkeit	Milligramm pro 50 ccm der Kulturflüssigkeit
Gallussäure	2,0	4,5
Entwicklung nach 3 Tagen . . .	—	—
„ 4 „	?	?
Para-Oxybenzoësäure .	2,1	4
Entwicklung nach 3 Tagen . . .	?	+
„ 4 „	+	++

Wie wir in § 3 (Tabelle I) gesehen haben, geben sogar hohe Gallussäure Konzentrationen (1 Proz.) Entwicklung, während gleich konzentrierte Lösungen der Paraoxybenzoësäure keine oder nur sehr langsame Entwicklung geben; 0,3-proz. Lösungen der letztgenannten Säure veranlassen eine rasche Entwicklung. Ähnlich mit der Gallussäure verhielt sich auch die Protocatechusäure. Lösungen, resp. 4,5 und 8,2 mg Protocatechusäure pro 50 ccm enthaltend, veranlassen weniger rasche Entwicklung als Lösungen mit, resp. 3,7 und 9,2 mm Paraoxybenzoësäure pro 50 ccm der Kulturflüssigkeit. Früher sahen wir, daß auf 1-proz. Lösungen der Prokatechusäure noch kräftige Entwicklung stattfindet (vgl. Tabelle I).

Weiter fand auf niedrig konzentrierte Phenollösungen raschere Entwicklung statt als auf Paraoxybenzoësäurelösungen der selben Konzentration.

■ Aus diesen Versuchen geht hervor:

Tabelle 4.
Einfluß der Konzentration der Kohlenstoffquelle auf die Entwicklung von *Penicillium glaucum*. Temp. 28°.
A. Paraoxybenzoesäure ($C_6H_4.OH.CO_2H + 1 \text{ aq.}$) Vol. der Lös.: 50 ccm.

1.

No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Quantität in mg	2,9	5,2	10,5	38,9	58,0	89,7	119,7	173,5	213,4	283,2
Nach 2 Tagen	—	—	—	+	+ > 4	+ > 5	< 6	= 7	= 8	= 9
Nach 4 Tagen	—	—	+	++	> 4	> 5	< 6	< 7	= 8	= 9
Nach 5 Tagen	—	+	+	++	> 4	> 5	< 6	viel < 7	< 8	= 9
Nach 6 Tagen	?	+ > 1	+ > 2	++	> 4	> 5	= 6	viel < 7	< 8	= 9
Nach 7 Tagen	+	+ > 1	+ > 2	++	> 4	> 5	< 6	< viel 7	< 8	= 9

Das Schnelligkeitsmaximum liegt also zwischen 89,7 und 119 mg Paraoxybenzoesäure.

2.

No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Quantität in mg	3,9	6,2	11,7	22,6	43,8	94,4	124,7	170,2	219,4	318,7
Nach 4 Tagen	?	+	+ > 2	+ > 3	++	= 5	< 6	= 7	+ < 8	+
Nach 5 Tagen	+	+ > 1	+ > 2	++	++ > 4	++ > 5	++ < 6	= 7	++ < 8	+
Nach 6 Tagen	+	+	++	++ > 3	++ > 4	++ > 5	++ < 6	= of > 7	< 8	+

Das Schnelligkeitsmaximum liegt also zwischen 94 und 170 mg.

Tabelle 4.
B. Meta-Oxybenzoësäure.

No.	1	2	3	4	5	6	7
Quantität in mg .	4,3	12,8	41,7	93,3	172,8	300	553,6
Nach 3 Tagen . .	?	gering	+	= 3	viel < 4	= 2	?
„ 5 „ . .	+	> 1	> 2	etwas > 3	viel < 4	sehr gering	< 6

Das Maximum liegt hier bei ca. 100 mg pro 50 ccm.

C. Phenol.

No.	1	2	3	4	5	6	7
Quantität in mg .	2,6	8,5	10,4	12,9	42,6	60,9	141,7
Nach 4 Tagen . .	Anfang	= 1	< 2	= 3	—	—	—
„ 6 „ . .	+	> 1	< 2 u. = 1	= 1	—	—	—
„ 7 „ . .	++	> 1	= 2	= 3	—	—	—

Das Maximum ist zwischen 8,5 und 10,4 mg pro 50 ccm.

D. Protocatechusäure.

No.	1	2	3	4	5	6	7
Quantität in mg .	4,5	8,2	28,1	79,0	158,5	658,5	1158,6
Nach 2 Tagen . .	?	+	+ > 2	+ > 3	+ > 4	= 5	+, viel < 6
„ 3 „ . .	+	+ > 1	++	++	+++	+++	+
„ 4 „ . .	+	+ > 1	++	++	+++	+++	+
						etwas < 5	

Das Maximum liegt also sehr hoch: bei ± 500 mg pro 50 ccm.

E. o-Phtalsäure.

No.	1	2	3	4	5	16
Quantität in mg	5,2	20,3	71,2	124,0	206	308
Nach 3 Tagen	—	?	—	—	—	—
„ 4 „	—	?	+	+	—	—
„ 6 „	+	+	+ > 2	+ < 3 u. < 1	—	—
„ 7 „	+	+	++	+	—	—

Das Maximum liegt bei ± 75 mg o-Phtalsäure pro 50 ccm.

1. Eine größere Konzentration einer Verbindung, die erst bei sehr großen Konzentrationen einen schädlichen Einfluß ausübt, veranlaßt im allgemeinen raschere Entwicklung als eine geringere Konzentration.

2. Eine niedrige Konzentration einer Verbindung, die in größeren Quantitäten schädlich wirkt, gibt im allgemeinen raschere Entwicklung als dieselbe Konzentration einer anderen weniger schädlichen Verbindung. Da die untersuchten Verbindungen schließlich in sehr großen Konzentrationen die Entwicklung von *Penicillium glaucum* hemmten, wurde dadurch das Bestehen eines Maximums der Schnelligkeit der Entwicklung notwendig bei einer für jede Verbindung bestimmten Konzentration. Dieses Maximum habe ich für mehrere Verbindungen bestimmt. Bei der Beurteilung der in

Tab. IV vereinigten Versuchsergebnisse muß man bedenken, daß die Vergleichung der Versuche miteinander nur während einer geringen Anzahl Tage fortgesetzt werden darf, da es bei längerer Versuchsdauer möglich ist, daß die nur geringe Quantität organischer Substanz in einigen Versuchen schon verschwunden sind, so daß eine länger fortgesetzte Vergleichung dann keinen Sinn mehr hat. Übrigens findet die Vermutung, daß die physiologischen Unterschiede zwischen den untersuchten Verbindungen nur quantitativer Natur sind, hier durch eine quantitative Untersuchung Bestätigung.

Obgleich in mehrerer Hinsicht Ausdehnung dieser Versuche erwünscht ist, komme ich schon jetzt zu den folgenden Sätzen:

1. Alle untersuchten Verbindungen veranlassen in sehr niedriger Konzentration nur langsame Entwicklung.

2. In sehr großen Konzentrationen üben diese Verbindungen einen schädlichen Einfluß aus, hemmen also die Entwicklung.

3. Die notwendige Konsequenz davon ist, daß es eine Konzentration geben wird, in welcher wir im Anfang eine maximale Entwicklung beobachten werden. Dieses Schnelligkeitsmaximum habe ich bei Para- und Metaoxybenzoesäure, bei Phenol, Orthophtalsäure und Protocatechusäure tatsächlich beobachtet.

4. Dieses Maximum liegt da, wo die Anfuhr des Nährstoffs der Verarbeitung im Organismus gleich sein wird.

5. Bei den Stoffen, welche schon in geringen Konzentrationen schädlich sind, liegt das Maximum auch bei niedrigen Konzentrationen, z. B. beim Phenol; dagegen bei Verbindungen wie Protocatechusäure und Gallussäure bei großen Konzentrationen. Da zwischen den untersuchten Verbindungen hauptsächlich nur quantitative Unterschiede gefunden wurden, konnte erwartet werden, daß dieselben in physiko-chemischer Richtung ihre Erklärung finden würden. Tatsächlich habe ich diese Prophezeiung durch das Experiment bestätigen können.

Man kann also vorläufig schließen, daß die meisten der untersuchten Verbindungen als Kohlenstoffquelle für *Penicillium glaucum* dienen können und daß der für den Organismus günstigste Zustand auftreten wird, wenn Gleichgewicht zwischen Anfuhr und Verarbeitung herrscht. Die Verarbeitung ist rein chemischer Natur. Wenn man also ausgeht von chemisch analogen Verbindungen, wie die von uns gewählten, so wird der Nährwert hauptsächlich von der Anfuhr des Nährstoffes bestimmt. Ist diese zu groß, so findet Überbürdung statt und wird hierdurch eine in ihrer Natur übrigens unbekannte Störung der Lebensfunktionen verursacht.

In § 3 und 5 dieses Kapitels betrachteten wir hauptsächlich die Weise, in welcher die Stoffe aus der wäßrigen Kulturflüssigkeit in den Organismus dringen können, während die Verarbeitung der Verbindungen im Organismus dabei nicht berücksichtigt wurde.

Daß wir aber bisweilen auch bei scheinbar sehr verwandten Verbindungen mit der Verarbeitung, also mit chemischen Faktoren zu tun haben, geht aus meinen Erfahrungen mit der Salizylsäure und der Orthotoluylsäure hervor.

Die Verarbeitung im Organismus. Die Umwandlung von Salizyl- in Gentisinsäure.

§ 1. Eigenschaften der Gentisinsäure.

Diese Säure gehört zu einer Gruppe von Benzolderivaten, welche nicht oder nur in geringem Maße Entwicklung veranlassen (Tab. 1, No. 13),

während die untersuchten Konzentrationen doch auch keinen hemmenden Einfluß auf die Entwicklung von *Penicillium glaucum* auf Kosten von anderen organischen Verbindungen ausübten (vgl. Tabelle 5).

Tabelle 5.

0,10 g Para-Oxybenzoessäure, gelöst in 50 ccm Leitungswasser
+ die notwendige anorganische Nahrung.

No.	Zugefügte Quantität Gentisinsäure	Entwicklung nach			
		2 Tagen	3 Tagen	5 Tagen	12 Tagen
1	—	+	++	+++	+++++
2	10 mg	+	++	+++	+++++ ¹⁾
3	90 mg	+	++	+++	+++++ ¹⁾

Kulturflüssigkeiten mit 92 mg Gentisinsäure pro 50 ccm als einzige Kohlenstoffquelle, zeigten nach einem Monate fast keine Entwicklung.

Ohne weiteres hatte man das Bestehen dergleichen Verbindungen schon im voraus sagen können, da es selbstredend ist, daß nicht alle chemischen Individuen, wenn dieselben übrigens dafür geeignet sind, für *Penicillium glaucum* angreifbar sein werden.

Zumal für die Gentisinsäure war dies gar nicht überraschend, weil wir wissen, wie schwer diese Verbindung von unseren gewöhnlichen chemischen Agentien zu einer höheren Oxydationsstufe gebracht wird.

Was geschieht aber jetzt mit den Verbindungen, welche in einer Para-oxybenzoessäure-Nährlösung die Entwicklung während einiger Zeit hemmen? Die vom Experiment gegebene Antwort findet man in § 2.

§ 2. Die Umwandlung von Salicyl- in Gentisinsäure unter Einfluß von *Penicillium glaucum*.

In Kapitel III, § 4 hat man beobachtet, daß, wenn Paraoxybenzoessäure als einzige Kohlenstoffquelle von *Penicillium glaucum* benutzt wird, schon ziemlich geringe Quantitäten Salizylsäure die Entwicklung im Anfang hemmen; daß aber schließlich doch Entwicklung stattfindet. Es war fraglich, ob wir hier nur mit einem Gewöhnungsprozeß zu rechnen hatten, wobei die Salizylsäure ungeändert bleibt, oder ob die vorhandene Orthoxybenzoessäure von *Penicillium glaucum* chemisch geändert wird.

In 50 ccm Leitungswasser wurde neben der bekannten anorganischen Nahrung, jedesmal 0,15 g Paraoxybenzoessäure gelöst und wechselnde Quantitäten Salizylsäure zugefügt. Nach der Sterilisation wurde mit dem Pilze geimpft. Die Resultate dieser Versuche findet man in Tab. 6.

Nach 11 Tagen wurden Nr. 1, 2, 3 und 4 von der Pilzsubstanz mittels Filtrieren befreit und die klare Lösung nach dem Sterilisieren wieder mit der ursprünglichen Pilzkultur geimpft. Nach 4 Tagen zeigten 1, 2, 3 und 4 gleich kräftige Entwicklung. Nach 6 Tagen zeigten 1 und 4 die kräftigste Entwicklung, übrigens war dieselbe in 3 < diejenige in 2 und 2 < 1. Hieraus geht hervor, daß in Nr. 4 tatsächlich Salizylsäure verschwunden ist, denn sonst mußte die früher vor dem Filtrieren beobachtete Hemmung der Entwicklung auch jetzt wieder auftreten.

Daß wir nach 6 Tagen eine geringe Entwicklung in 2 und 3 beobachteten, wird dadurch erklärt; daß in 2 und besonders in 3 schon der größte Teil der

¹⁾ Die Gentisinsäure war noch in der Lösung vorhanden.

Nahrung benutzt worden war, wie aus der Beobachtung nach 7 Tagen hervorgeht (Tab. 6). Wir hatten also festgestellt, daß kleine Quantitäten Salizylsäure unter den genannten Umständen, in irgendwelcher Weise aus der Lösung verschwinden. Die Möglichkeit besteht, daß die Pilzsubstanz die Salizylsäure in ungeändertem Zustande aufgenommen hatte, wahrscheinlich war dies aber nicht.

Tabelle 6.

Para-Oxybenzoësäure mit verschiedenen Quantitäten Salizylsäure.

No.	Para-Oxybenzoësäure in mg	Salizylsäure in mg	Entwicklung nach		
			3 Tagen	7 Tagen	11 Tagen
1	151	—	+	+++	+++++
2	150	3 à 4	+	+++; > 1	+++++
3	150	2	+	+++++	+++++
4	150	7,5	?	++	++++
5	151	18	—	—	—
6	150	57	—	—	—

Durch die folgenden Versuche erhielt ich mehr Klarheit über diesen Gegenstand.

Wie gewöhnlich wurde wieder mit 50 ccm Leitungswasser gearbeitet, während die bekannten anorganischen Bestandteile darin gelöst waren. Die Temperatur war immerhin ungefähr 25° C. Die organische Nahrung war 0,15 g Paraoxybenzoësäure (vgl. Tab. 7). Bei Nr. 3 und 4 wurde noch ± 7 mg Salizylsäure zugefügt. Nr. 5 diente nur zum Vergleich.

Tabelle 7.

No.	Zugefügte Quantität Para-Oxybenzoësäure	Zugefügte Quantität Salizylsäure	Entwicklung nach		
			2 Tagen	9 Tagen	13 Tagen
1	0,1513 g	—	+	++++	+++++
2	0,1513 g	—	+	++++	+++++
3	0,1511 g	0,0073 g	?	+++	+++++
4	0,1513 g	0,0067 g	?	+++	+++++
5	0,1500 g	0,0066 g	—	—	—

Nach 13 Tagen reagierte ich in Nr. 1 und 4 mit Ferichlorid. Nr. 1 lieferte nichts Merkwürdiges, dagegen entstand in 4 eine hellblaue Farbe, die sich bald in braungelb umwandelte. Mit einem Übermaß Ferrichlorid wurde die Lösung wieder blau, dann wieder braungelb, um schließlich bei wiederholter Zufügung größerer Quantitäten, braungelb zu bleiben. Diese eigentümliche Farbenaufreaktion war nicht der Pilzsubstanz zu verdanken, denn auch das Filtrat, wie ich bei Nr. 4 nachwies, gab dieselbe Reaktion.

An der anderen Seite wurde eine Lösung, wie in Nr. 5 mit Ferrichlorid dauerhaft violett. Die oben beschriebene Farbenaufreaktion ist derjenigen der 2,5 Dioxybenzoësäure (COOH = 1, Gentisinsäure) ähnlich.

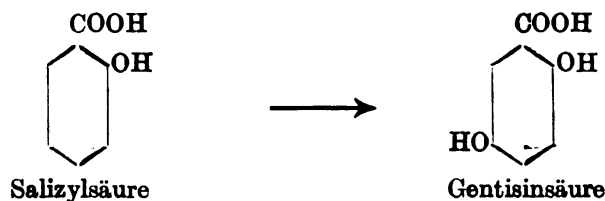
Zur näheren Bestätigung wurden die Absorptionsspektren der blaugefärbten Lösungen, die eine verdünnte Gentisinsäurelösung und das Filtrat von Nr. 4 mit FeCl₃ gaben, miteinander verglichen mittels des Vergleichsspektroskops (Z e i ß ¹⁾).

¹⁾ Der Stand der Skala wurde nicht verifiziert.

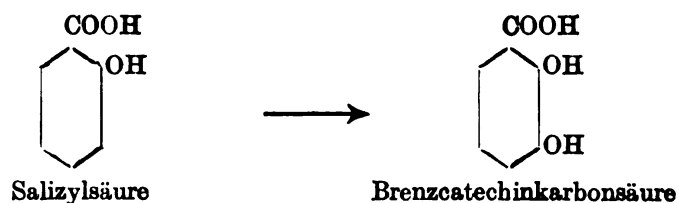
Bei der reinen Gentisinsäure wurde von 0,70—0,65 μ absorbiert und weiter ein beträchtlicher Prozentgehalt vom roten Teile des Spektrums. Auch der blaue Teil war sehr lichtschwach und von 0,42—0,40 μ war fast ganz absorbiert. Bei dem Filtrat von Nr. 4 wurde absorbiert von 0,70—0,68 μ und übrigens ein großer Teil vom Rot und Blau und von 0,415—0,40 μ war wieder ganz dunkel.

Die Farbe der Lösung war nur während kurzer Zeit blau zu halten; bald wurde sie braungelb, dabei konnte keine beträchtliche Änderung des Spektrums beobachtet werden. Eine verdünnte, bei diesen Versuchen benutzte Ferri-chloridlösung zeigte nicht die obengenannten Absorptionsbände.

Es ist also dargetan, daß bei den Versuchen Nr. 3 und 4 die Salizylsäure in Gentisinsäure umgewandelt wird:



Die zweite Hydroxylgruppe tritt also in die Parastellung ein (bezogen auf die erste Hydroxylgruppe). Gentisinsäure, sogar in großen Konzentrationen beeinträchtigt die Entwicklung von *Penicillium glaucum* auf Kosten der Paraoxybenzoësäure nicht im mindesten (Tab. 5), während die Gentisinsäure hierbei, wenn nicht ganz, so doch zum Teil nach 24 Tagen ungeändert bleibt. Bei den Versuchen 3 und 4 hatten wir also an erster Stelle eine nur langsame Entwicklung wegen der vorhandenen Salizylsäure. Nach einiger Zeit war dieser hemmende Einfluß überwunden, die Salizylsäure war teilweise durch Oxydation in Gentisinsäure umgewandelt. Neben der Gentisinsäure konnte man noch die Bildung der Brenzcatechinkarbonsäure erwarten:



Die Brenzcatechinkarbonsäure ist als einzige Kohlenstoffquelle für *Penicillium glaucum* geeignet. Wenn diese Säure also aus Salizylsäure unter dem Einfluß des betreffenden Organismus entsteht, wird dieselbe auch bald wieder verschwinden. Daß die Brenzcatechinkarbonsäure mittels dieser biochemischen Oxydation aus der Salizylsäure entstehen wird, ist aber wahrscheinlich, da ich beobachtet habe, daß Salizylsäure in kleinen Konzentrationen als einzige Kohlenstoffquelle geeignet ist.

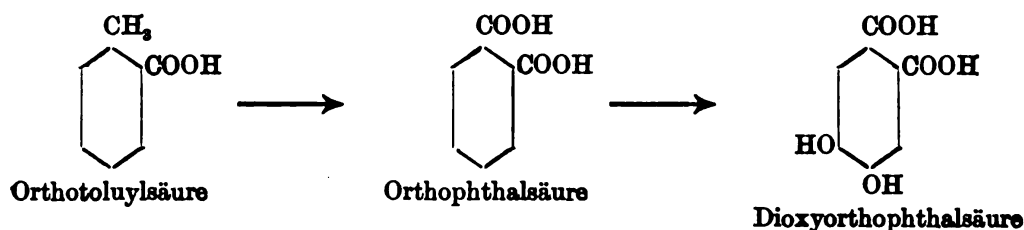
Entstände nur Gentisinsäure, so würde dies nicht möglich sein, da diese Säure nicht, oder wenigstens viel zu langsam vom Organismus verarbeitet wird.

Das obenstehende ist zugleich wieder ein Beispiel von der großen Übereinstimmung zwischen den gewöhnlichen chemischen Reaktionen und denjenigen, welche stattfinden unter dem Einfluß des Organismus.

Gentisinsäure kann nl., wie bekannt, sehr leicht durch Oxydation von Salizylsäure in alkalischer Lösung erhalten werden¹⁾.

Mit diesen Tatsachen ist eine andere Beobachtung in Zusammenhang:

Eine Nährflüssigkeit, die außer der bekannten anorganischen Nahrung, 0,3 Proz. Paraoxybenzoësäure und 0,00026 Proz. Orthotoluylsäure enthielt, war mit *Penicillium glaucum* geimpft. Nach ungefähr einem Monate hatte beträchtliche Entwicklung stattgefunden. Die dann filtrierte Kulturflüssigkeit gab mit Ferrichlorid eine grüne Farbenreaktion, welche vermutlich der Anwesenheit einer Brenzcatechinderivat zuzuschreiben war.



Tatsächlich gibt diese Säure, welche durch Metasubstitution entstehen kann, mit Ferrichlorid eine grüne Farbe. Eine nähere Bestätigung des oben angegebenen Reaktionsschema fand ich in dem Verhalten der Orthophthalsäure. Auch diese Säure gab unter analogen Umständen gleichfalls eine grüne Farbreaktion mit Ferrichlorid, wie man auch erwarten konnte. Zugleich wurde nachgewiesen, daß eine 0,3-proz. Paraoxybenzoësäurelösung, welche keine anderen organischen Verbindungen enthielt, keine Farbreaktion nach der Entwicklung von *Penicillium glaucum* zeigte.

Später beobachtete ich, daß einige Paraoxybenzoësäurenährlösungen, auf welchen nur ein mäßiges Wachstum stattgefunden hatte, wohl eine grüne Eisenreaktion zeigten. Wahrscheinlich werden auch hier Brenzcatechinderivate gebildet sein.

Zusammenfassung.

1. Die Verbindungen, welche bei mittleren Konzentrationen keinen schädlichen Einfluß auf den Organismus ausüben, werden nicht immer assimiliert. Ein charakteristisches Beispiel dergleichen Verbindungen ist die 2,5 Dioxybenzoësäure (Gentisinsäure).

2. Es wurden Salizylsäurekonzentrationen gefunden, die die Entwicklung von *Penicillium glaucum* auf Kosten der Paraoxybenzoësäure hemmten. Es konnte nachgewiesen werden, daß in diesen Fällen Salizylsäure aus der Lösung verschwindet.

3. Es wurde festgestellt, daß unter den in 2. genannten Umständen, die verschwundene Salizylsäure teilweise in die bei jener Verdünnung unschädliche Gentisinsäure umgewandelt wird.

4. Dergleichen Umwandlungen wurden für andere in geringen Konzentrationen schon schädliche Verbindungen wahrscheinlich gemacht.

Der Zusammenhang zwischen physiologischer Wirkung und der Verteilung Öl : Wasser,

§ 1. Einleitung.

In einem der vorigen Kapitel (Experimenteller Teil § 5) ist der Gedanke ausgesprochen, daß die schädliche Wirkung, welche viele Verbin-

¹⁾ Scherings Patent. Friedländer, IV. 1894—97. p. 126. No. 81 068; p. 127. No. 81 297.

dungen auf *Penicillium glaucum* ausüben, einer zu raschen Anfuhr der betreffenden Substanzen zuzuschreiben ist. Verbindungen, welche bei großen Konzentrationen schädlich wirken, können bei niedrigeren Konzentrationen als Nahrung dienen.

Es mußte also untersucht werden, ob Zusammenhang besteht zwischen der Größe der für die untersuchten Verbindungen schädliche Konzentration und die Schnelligkeit des Eindringens in den Organismus. Zahlreiche Forscher haben sich schon beschäftigt mit den Faktoren, welche die Schnelligkeit des Eindringens in Tier- und Pflanzenzellen bedingen.

Es sind aber die von Overton ausgeführten Versuche und die hierauf gegründeten Theorien, die hier der wichtigste Leitfaden sind. Der Transport von Stoffen aus dem Medium nach dem Innern der Zelle und umgekehrt muß Einfluß ausüben auf die Eigenschaften der Scheidungswand. Eine der merkwürdigsten Erscheinungen, die hierbei beobachtet werden können, ist die Plasmolyse, d. h. Scheidung von Protoplasma und Zellwand.

Nägeli¹⁾ war der erste, der für diese Erscheinung eine genügende Erklärung zu geben wußte. Eine Lösung, deren Konzentration noch gerade genügend war, um Plasmolyse zu verursachen, mußte nach Nägeli dieselbe „osmotische Kraft“ besitzen wie der Zellsaft.

Nägeli wies darauf hin, daß das Protoplasma Ursache ist der osmotischen Eigenschaften der lebenden Zellen, während die Zellwand dafür von keiner Bedeutung sein würde.

Diese Gedanken wurden von Pfeffer und später von Hugo de Vries näher ausgearbeitet. Durch ihre Untersuchungen und diejenigen von H. J. Hamburger²⁾ kam Van't Hoff zu der Theorie der verdünnten Lösungen.

E. Overtons³⁾ Auffassung war im Anfang ganz mit diesen Gedanken in Übereinstimmung. Die Impermeabilität der Protoplasma wand für die Moleküle der gelösten Substanz war hierbei Grundsatz; die Wassermoleküle würden ungestört passieren können. Doch waren schon frühzeitig Stoffe bekannt, welche die Erscheinung der Plasmolyse in sehr ungenügender Weise zeigten, oder welche, wie Glyzerin und Harnstoff, wohl im Anfang plasmolysierten, wobei die Plasmolyse auf die Dauer wieder verschwand, wie G. Klebs und H. de Vries beobachtet hatten.

Ein derartiges Verhalten konnte nicht durch die Annahme der absoluten Impermeabilität der Protoplasma wand erklärt werden; man mußte annehmen, daß dergleichen Stoffe wohl eindringen, und zwar mit wechselnder Schnelligkeit, abhängig von der Natur der Verbindung. Mit diesen Überlegungen wurde im Anfang nicht in genügender Weise Rechnung gehalten. Die Untersuchungen von Overton haben hier die gewünschte Klarheit gebracht. Er brauchte nämlich für eine andere Untersuchung Verbindungen, welche rasch eindringen. Dabei beobachtete er das bisher noch unbekannte rasche Eindringen von zahlreichen anderen Verbindungen; einige derselben passierten mit einer solchen Schnelligkeit die Wand des Protoplasmas, daß Plasmolyse bisweilen gar nicht auftrat.

Während die einwertigen Alkohole im allgemeinen sehr rasch in die pflanzliche oder tierische Zelle eindringen und Glykol ziemlich rasch, passierte

¹⁾ Nägeli, Pflanzenphysiol. Untersuchungen. 1855.

²⁾ Vgl. Van't Hoff, Acht Vorträge über physikalische Chemie. Braunschweig 1902. 5. Vortrag, Physik. Chemie u. Physiol.

³⁾ Overton, E., Über die osmotischen Eigenschaften der lebenden Pflanzen- und Tierzelle. (Vierteljahrsschr. d. naturf. Gesellsch. Zürich. Bd. 40. 1895. p. 159.)

Glyzerin dagegen die Protoplasmawand mit nur mäßiger Schnelligkeit. Verbindungen wie Erythrit und besonders Arabinose drangen sehr langsam ein. Die Eindringungsschnelligkeit von Mannit und den Hexosen war so gering, daß man dieselbe nicht beobachtete; auch die meisten anorganischen Salze wanderten nur langsam ein. Weiter beobachtete er, daß zu der Gruppe der am schnellsten eindringenden Verbindungen zu gleicher Zeit die meisten Antiseptica gehörten. Es war besonders merkwürdig, daß gerade die Verbindungen, deren Ein- und Austretungsschnelligkeit so groß war, beim normalen Stoffwechselprozeß fast nicht von Bedeutung waren. So kam Overton zu der folgenden Bemerkung: „Ja, man möchte fast sagen, daß die meisten Organismen in ihrem Stoffwechsel solche Verbindungen zu vermeiden suchen, welche auf rein physikalischem Wege die Plasmahaut schnell zu durchwandern vermögen, und wo solche Stoffe vorübergehend auftreten, bestrebt sind, sie in andere Verbindungen überzuführen, welche die nicht mehr tun, und im Interesse der Regelung der Stoffwanderung scheint uns ein solches Verhalten auch sehr begreiflich.“ Es gab aber m. E. noch einige nicht befriedigende Punkte in der Overton'schen Anschauung. A priori konnte man im voraus sagen, daß die Zucker- und verwandte Verbindungen, im allgemeinen die Nährstoffe, die Plasmahaut durchwandern, sei es auch mit geringer Schnelligkeit. Ein Versuch, in diesem Fall ein osmotischer, kann nie beweisen, daß dies nicht der Fall ist.

Man kommt also zum Schluß, daß entweder die Umstände bei den Plasmolyseversuchen stark von der normalen Kulturbedingung verschieden sind, oder daß die Zucker usw. wohl eindringen, aber sofort festgelegt werden, z. B. in der Form einer chemischen Verbindung, die nicht oder nur sehr mäßig osmotisch wirksam ist.

Die Annahme, daß eine schon eingedrungene Verbindung keineswegs immer osmotisch wirksam zu sein braucht, kann einige bisher unwahrscheinliche Punkte der Lipoidtheorie erklären. Die Bedeutung der lockeren chemischen Bindung ist besonders in den letzten Jahren durch die Untersuchungen von Böeseken über die Organo-Borsäureverbindungen auf den Vordergrund getreten¹⁾. Wir müssen also, außer den eigentlichen osmotischen, den chemischen Eigenschaften der Protoplasmawand berücksichtigen. Daß man die physikalischen Eigenschaften berücksichtigen muß, ist selbstredend, denn bei der Erklärung der osmotischen Eigenschaften geht man aus von der Annahme einer semi-permeablen Wand. Wenn dieselbe sich bisweilen nicht als semi-permeabel verhält, so beeinträchtigt dies nicht die von de Vries, van't Hoff u. a. gegebenen Auffassungen. Die Tatsache, daß die Verbindungen, welche leicht in Öl löslich sind, während ihre Löslichkeit in Wasser ziemlich klein ist, keine oder geringe Plasmolyse verursachen, ist also keineswegs in Widerspruch mit den genannten Auffassungen; auch die Tatsache, daß viele Nährstoffe Plasmolyse verursachen, kann mit denselben in Übereinstimmung gebracht werden. Overton, dessen Meinung anfangs mit denjenigen der genannten Holländischen Forscher übereinstimmte, hat dieses nicht genügend berücksichtigt.

So sagt er²⁾ (S. 106): „Man hat das osmotische Verhalten des lebenden

¹⁾ Vgl. auch Böeseken, J., u. Waterman, H. J., Über die Wirkung der Borsäure und einigen anderen Verbindungen auf die Entwicklung von *Penicillium glaucum* und *Aspergillus niger*. (Fol. microbiol. I. 1912. p. 342.)

²⁾ Overton, E., Über die allgemeinen osmotischen Eigenschaften der Zelle, ihre vermutlichen Ursachen und ihre Bedeutung für die Physiologie. (Vierteljahrsschr. d. naturf. Gesellsch. in Zürich. Bd. 44. 1899. p. 88.)

Protoplasts mit demjenigen einer Niederschlagmembran verglichen, ja die Grenzschichten des Protoplasts geradezu als Niederschlagsmembranen gedeutet, eine Hypothese, welcher ich ebenfalls lange Zeit zuneigte. Seit etwa drei Jahren ist mir indessen diese Hypothese immer weniger wahrscheinlich geworden, und ich bin immer mehr zu der Vermutung geführt worden, daß die eigentümlichen osmotischen Eigenschaften der lebenden Protoplasten auf Erscheinungen der auswählenden Löslichkeit zurückzuführen sind, eine Vermutung, die mir im Laufe der Zeit fast zur Gewißheit geworden ist.

Es fiel mir nämlich schon frühzeitig auf, daß alle solche Verbindungen, welche in Äther, fetten Ölen und ähnlichen Lösungsmitteln leichter löslich sind als in Wasser, denn hierauf kommt es hauptsächlich an, durch den lebenden Protoplast mit großer Schnelligkeit eindringen, während für solche Verbindungen, welche zwar in Wasser leicht, in Äthyläther oder fettem Öl gar nicht oder nur sehr wenig löslich sind, der Protoplast nicht merklich oder nur äußerst langsam durchlässig ist.“

O v e r t o n hat also auf den Zusammenhang zwischen relativ starker Fettlöslichkeit in bezug auf die Löslichkeit in Wasser, und dem schnellen Durchwandern der Plasmahaut hingewiesen. Die Annahme lag auf der Hand, daß die Protoplasma wand durchtränkt war mit einer Substanz, deren Lösungsvermögen für verschiedene Verbindungen mit demjenigen eines fetten Öls übereinstimmte.

Nach O v e r t o n sollten es hauptsächlich Cholesterin- und Lecithinartige Bestandteile sein¹⁾. In Lecithin löst sich eine beträchtliche Quantität Wasser, dadurch wird auch die Tatsache, daß Wasser in die meisten Zellen schnell eindringt, begreiflich. Übrigens denkt O v e r t o n sich die Zusammensetzung dieser Lipoidbestandteile keineswegs immer dieselbe, obgleich die Unterschiede nicht wichtig sein werden, da die meist verschiedenen Zellen sich in analoger Weise verhalten.

Das obenstehende ist m. E. das Essentielle der O v e r t o n schen Theorie²⁾ und nicht in Widerspruch mit der Annahme der semipermeablen Protoplasma wand, welche in zahlreichen Fällen mit dem Experiment in Einklang war.

Mich auf die O v e r t o n schen Resultate stützend habe ich die Verteilung Öl : Wasser von zahlreichen Verbindungen bestimmt und dadurch die Erklärung für ihr physiologisches Verhalten gefunden.

§ 2. Bestimmung der Verteilung: Olivenöl:Wasser.

Ein Teilungskoeffizient gilt immer für eine bestimmte Konzentration und für eine bestimmte Temperatur. Es ist gerade die Abhängigkeit der Konzentration, welche Ursache ist, daß die bei höheren Konzentrationen gefundenen Teilungszahlen nicht ohne weiteres für größere Verdünnungen extrapoliert werden dürfen.

Dies gilt besonders für jene Verbindungen, wo eventuell auftretende Dissoziation und Assoziation in beiden Phasen in ungleicher Weise einen Einfluß ausüben, z. B. wird die in wässrigen Lösungen bei den untersuchten Säuren auftretende elektrolytische Dissoziation gewiß eine beträchtliche Änderung des Teilungszustandes bei einer Erhöhung oder Erniedrigung

¹⁾ O v e r t o n, E., Handb. d. Physiol. d. Menschen, herausgeg. v. W. N a g e l. Bd. 2. 1907. p. 818.

²⁾ Vgl. die von O v e r t o n aufgestellten Sätze für die Schnelligkeit des Eindringens mehrerer Verbindungen in Zusammenhang mit der Verteilung Öl : Wasser; O v e r t o n, E., l. c. p. 819.

der Konzentration zur Folge haben. Doch habe ich bei meinen Versuchen keine Rechnung damit gehalten, weil 1. die Dissoziation der meisten untersuchten Säuren in wässriger Lösung ziemlich gering war, und 2. ev. Fehler meistens innerhalb der Beobachtungsfehler fallen werden.

Die eigentliche Verteilung der Verbindung zwischen Olivenöl und Wasser wurde nicht bestimmt, sondern nur die Löslichkeit in jeder der beiden Flüssigkeiten einzeln.

Die Temperatur war immer 25°, von den meisten Verbindungen war die Löslichkeit in Wasser bekannt. Wo dies nicht der Fall war, wurde auch diese Zahl bestimmt durch stundenlanges Schütteln von einem Übermaß der betreffenden Verbindung mit einem bekannten Volumen Wasser, bis der Gleichgewichtszustand erreicht war.

Bei den Säuren wurde die in Lösung gegangene Quantität durch Titrieren eines bekannten Volumens von der durch Abklären von schwebenden Teilchen befreiten klaren Lösung bestimmt. In dieser Weise wurde auch die Löslichkeit in Olivenöl bestimmt. Nur war die Dauer des Schüttelns länger. Die Quantität der sich in der Öllösung vorfindenden Säure wurde durch wiederholtes Auskochen mit kohlensäurefreiem Wasser und Titrieren der wässrigen Lösung festgesetzt. Für die Verbindungen, wobei dies nicht mittels Titrieren bestimmt werden konnte, wurden zwei Quantitäten festgesetzt, von welchen eine noch gänzlich in Lösung ging, während bei der zweiten ein geringer Teil sich selbst nach langem Schütteln nicht auflöste.

Immer wurde dasselbe Olivenöl benutzt (*Huile clarifiée surfine, première qualité*). Später wurde eine große Quantität dieses Öls von der „Pharmazeutischen Handelsvereinigung“ in Amsterdam gekauft.

Nach der Bestimmung der Löslichkeit in beiden Flüssigkeiten, Olivenöl und Wasser, wurden die Teilungszahl zwischen Öl und Wasser berechnet.

$$\sqrt[25^\circ]{ } = \frac{\text{Gramm gelöste Substanz pro 100 g Olivenöl}}{\text{Gramm gelöste Substanz pro 100 g Wasser}}$$

Der Säuregehalt des Olivenöls konnte vernachlässigt werden, wie ich durch Versuche nachwies. Um die Genauigkeit der Auskochungsmethode festzustellen, löste ich resp. 0,1 und 0,05 g Salizylsäure in Olivenöl und kochte diese Lösungen mit CO₂-freiem Wasser aus, bis keine Säure mehr in Lösung ging. Eine Titration mit Barytwasser von bekannter Stärke gab genau die berechneten Zahlen.

1. Salizylsäure.

a) Löslichkeit in Olivenöl¹⁾.

Olivenöl wurde mit einem Überschuß Orthooxybenzoësäure während 5½ Stunden im Thermostat bei 25,1° geschüttelt. Dann wurde eine auspipettierte gewogene Quantität der Lösung mit immer gleichen Quantitäten Wasser gekocht und jedesmal titriert. Zwei Bestimmungen wurden zu gleicher Zeit ausgeführt. Die folgenden Zahlen wurden gefunden:

Gramm Salizylsäure pro 100 g Olivenöl	Dauer des Schüttelns	Temperatur
2,52	5 ½ Stunden	25,1—25,0°
2,62	5 ½ „	25,1—25,0°
2,63	10 ½ „	25,1—(26,7°)

¹⁾ Für die genauere Ausführung der Versuche sei nach meiner Dissertation verwiesen.

b) Löslichkeit in Wasser.

Zwischen 0° und 56° gilt eine Formel von dem von Nordenskjöld vorgeschlagenen Typus¹⁾:

$$\log S = 0,01556 t - 1,0458, \text{ setzen wir } t = 25^\circ$$

$$\log S = -0,6568 = 0,3432 - 1; S = 0,220 \text{ g Salizylsäure,}$$

S = Löslichkeit pro 100 g Wasser.

Mittels der graphischen Methode fand ich auch:

$$S = 0,220 \text{ g.}$$

c) Teilungszahl:

$$\sqrt[25^\circ]{25^\circ} = \frac{2,6}{0,22} = 11,8.$$

2. Meta-Oxybenzoessäure:

a) Olivenöl pro 100 g: 1. 0,426 g Meta-Oxybenzoessäure,

2. 0,424 g „ „

b) Wasser:

$$\log S = 0,01793 t - 0,4118$$

$$t = 25^\circ$$

$$\log S = 0,3645 \quad S = 1,088 \text{ g Meta-Oxybenzoessäure pro 100 g Wasser.}$$

Mittels der graphischen Methode fand ich 1,10 g.

c) Teilungszahl:

$$\sqrt[25^\circ]{25^\circ} = \frac{0,425}{1,095} = 0,4.$$

3. Para-Oxybenzoessäure:

a) Olivenöl pro 100 g: 1. 0,366 g Para-Oxybenzoessäure (wasserfrei),

2. 0,375 g „ „ „

b) Wasser:

$$\log S = 0,0227 t - 0,7972$$

$$t = 25^\circ$$

$$\log S = 0,7703 - 1 \quad S = 0,5892 \text{ g Para-Oxybenzoessäure.}$$

Mittels der graphischen Methode fand ich:

0,600 g Para-Oxybenzoessäure pro 100 g Wasser.

c) Teilungszahl:

$$\sqrt[25^\circ]{25^\circ} = \frac{0,37}{0,59} = 0,6.$$

4. Benzoessäure:

a) Olivenöl pro 100 g: 4,33 g Benzoessäure,

b) Wasser²⁾ pro 100 g: 0,345 g Benzoessäure,

c) Teilungszahl:

$$\sqrt[25^\circ]{25^\circ} = \frac{4,33}{0,345} = 12,6.$$

5, 6, 7-Ortho-, Meta- und Para-Toluylsäure:

	Ortho	Meta	Para
a) Olivenöl pro 100 g	4,82; 4,75	> 2,1	1,03
b) Wasser ²⁾ pro 100 g	0,118	0,098	0,035
c) Teilungszahl: $\sqrt[25^\circ]{25^\circ}$	40,5	> 21	29,5

8. 2, 4-Dioxybenzoessäure (β -Resorzylsäure):

a) Olivenöl pro 100 g: 1. 0,67 g β -Resorzylsäure (+ $\frac{1}{2}$ Aq.)

2. 0,68 g „ („)

b) Wasser pro 100 g 1. 0,674 g „ („)

2. 0,656 g „ („)

c) Teilungszahl:

$$\sqrt[25^\circ]{25^\circ} = \frac{0,675}{0,665} = 1.$$

¹⁾ Vgl. Walker u. Wood, Journ. Chem. Soc. Vol. 73. 1898.

²⁾ Seidell, Solubilities of inorganic and organic substances.

9. 3, 4-Dioxybenzoessäure (Protocatechusäure):

- a) Olivenöl pro 100 g: 0,092 g Protocatechusäure (+ 1 Aq.)
 b) Wasser pro 100 g: 1. 1,46 g " (")
 2. 1,48 g " (")

c) Teilungszahl:

$$\sqrt[25]{25^0} = \frac{0,09}{1,47} = 0,06.$$

10. 2, 5-Dioxybenzoessäure (Gentisinsäure):

- a) Olivenöl pro 100 g: 1. 0,66 g Gentisinsäure
 2. 0,65 g "
 b) Wasser pro 100 g: 1. 2,35 g "
 2. 2,41 g "

c) Teilungszahl:

$$\sqrt[25]{25^0} = \frac{0,66}{2,38} = 0,3.$$

11. 3, 4, 5-Trioxibenzoessäure (Gallussäure):

- a) Olivenöl pro 100 g: 1. 0,03 g Gallussäure (+ 1 Aq.)
 2. 0,02 g " (")
 b) Wasser¹⁾ pro 100 g: 1,20 g " (")

c) Teilungszahl:

$$\sqrt[25]{25^0} = \frac{0,025}{1,20} = 0,025.$$

12. Anissäure:

- a) Olivenöl pro 100 g: 1. 0,37 g Anissäure
 2. 0,40 g "
 b) Wasser pro 100 g: 1. 0,023 g²⁾ "
 2. 0,03 g "

c) Teilungszahl:

$$\sqrt[25]{25^0} = \frac{0,38}{0,03} = 12 \text{ à } 13.$$

13. Guajakolkarbonsäure:

- a) Olivenöl pro 100 g: 1. 0,93 g Guajakolkarbonsäure
 2. 0,91 g "
 b) Wasser pro 100 g: 0,25 g "

c) Teilungszahl:

$$\sqrt[25]{25^0} = \frac{0,92}{0,25} = 3,7.$$

14. Ortho-Phthalsäure:

- a) Olivenöl pro 100 g: $\pm 0,01$ g Ortho-Phthalsäure
 b) Wasser pro 100 g: $\pm 1,1$ g Ortho-Phthalsäure
 c) Teilungszahl:

$$\sqrt[25]{25^0} = \frac{0,01}{1,1} = 0,01.$$

15. Terephthalsäure:

Teilungszahl:

$$\sqrt[25]{25^0} = 9 - 9,5.$$

16. Phenol:

- a) Olivenöl pro 100 g: > 80 g Phenol, < 93 g Phenol
 b) Wasser pro 100 g: Etwas > 9 g
 c) Teilungszahl:

$$\sqrt[25]{25^0} = > 9, < 10,3.$$

17. Resorzin:

Teilungszahl:

$$\sqrt[25]{25^0} = 0,04.$$

¹⁾ Seidell, l. c.

²⁾ Paul, Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. 14. p. 110.

Tabelle 8.
Teilungszahl in Zusammenhang mit Hemmung und Entwicklung.

Namen der Verbindung	No.	Teilungszahl bei 25°	Hemmende Wirkung	Entwicklung bei Quant. > 50 mg	Maximum-Entwicklung
o-Toluylsäure	5	40,5	++++	—	
p-Toluylsäure	7	29,5	+++	—	
m-Toluylsäure	6	> 21	+++	—	
Benzoësäure	4	12,6	++	—	
Anissäure	12	12 à 13	+	+	
Salizylsäure	1	11,8	++	—	< 2 mg
Phenol	16	> 9, < 10,3	+	+	9 à 10 mg
Terephthalsäure	15	9—9,5	+	—	
Guajakolkarbonsäure	13	3,7	+	—	
2, 4-Dioxybenzoësäure	8	1,0	+ <	+, > Phenol	
2, 6-Dioxybenzoësäure	—	nicht bestimmt	—	+	
2, 3-Dioxybenzoësäure	—	„	—	+	
p-Oxybenzoësäure	3	0,6	—	++	± 100 mg
m-Oxybenzoësäure	2	0,4	—	++	± 100 mg
2, 5-Dioxybenzoësäure	10	0,3	—	—	
3, 4-Dioxybenzoësäure	9	0,06	—	+++	± 600 mg
Resorzin	17	0,04	—	+++	
3, 4, 5-Trioxybenzoësäure	11	0,025	—	+++	
o-Phthalsäure	14	0,01	—	++	± 125 mg

§ 3. Resultate und nähere Erörterungen.

Die in § 2 bestimmten „Teilungszahlen“, die nur wenig von den wirklichen Teilungskoeffizienten zwischen Olivenöl und Wasser verschieden sein werden, geben in Zusammenhang mit den Auffassungen von E. Overton, wenn wir einige Ausnahmen unberücksichtigt lassen, eine Erklärung für die beobachteten physiologischen Eigenschaften (vgl. Tab. 8). Alle Verbindungen, welche eine große Teilungszahl besitzen, dringen rasch in die Zellen ein, üben deshalb schon in geringen Konzentrationen einen schädlichen Einfluß auf die Entwicklung von *Penicillium glaucum* aus. Beispiele dieser Art sind Salizylsäure und Benzoësäure. Wenn wir diese Verbindungen als einzige Kohlenstoffquelle benutzen wollen, so geben sogar ziemlich niedrige Konzentrationen keine Entwicklung. Wenn wir aber imstande wären, die Wirkung der Funktionen des Organismus zu beschleunigen, so würden wir die Konzentration, bei welchen diese Verbindungen ihre schädliche Wirkung auszuüben beginnen, beträchtlich erhöhen. In jenem Falle würden die rasch angeführten Nährstoffe sofort benutzt werden. Hierzu sind wir aber nicht imstande, doch können wir über Verbindungen verfügen, deren Teilungszahl niedriger ist. Dies ist z. B. der Fall mit der Para- und Metaoxybenzoësäure.

Die in den Organismus gewanderte Menge ist da, diesem Umstande zufolge, pro Zeiteinheit beträchtlich niedriger, so daß eine Überbürdung des Organismus nur bei höheren Konzentrationen auftritt. Das Schnelligkeitsmaximum liegt denn auch bei viel größerer Konzentration. In noch stärkerem Grade ist dies mit Verbindungen wie Protocatechusäure und Gallussäure der Fall. Ausgezeichnete Entwicklung wird noch bei ziemlich großen Konzentrationen dieser Verbindungen beobachtet.

Eine große Teilungszahl einer Verbindung ist also Ursache, daß schon kleine Konzentrationen jener Verbindung schädlich wirken und daß das Schnelligkeitsmaximum bei niedrigen Konzentrationen liegt.

Zu einer niedrigen Teilungszahl gehört ein bei großen Konzentrationen gelegenes Schnelligkeitsmaximum und eine auch bei größeren Konzentrationen anfangende schädliche Wirkung. Diese Sätze habe ich bei mehr als 100 Verbindungen bestätigt gefunden (vgl. auch das folgende Kapitel).

Außer der Teilungszahl kommen für die physiologische Wirkung vieler Verbindungen noch andere Faktoren in Betracht.

Wenn wir die Bildung von für die Organismen schädlichen Produkten außer Betracht lassen, so werden zumal bei Verbindungen, deren Umsetzungsgeschwindigkeit sehr gering ist, sich die schädlichen Folgen einer zu schnellen Anfuhr am ersten gelten lassen. Diesem Umstand muß man es zuschreiben, daß kleine Salizylsäurekonzentrationen stärker hemmend wirken als Phenollösungen derselben Konzentration, obgleich die Teilungszahlen nur wenig verschieden sind. Für zahlreiche der von mir untersuchten Substanzen hat also die O v e r t o n s c h e Theorie gute Dienste leisten können.

In § 1 dieses Kapitels habe ich dargelegt, daß die Tatsache, daß die Wand des Protoplasmas permeabel sein muß für viele nicht in Öl lösliche Verbindungen, mit der O v e r t o n s c h e n Theorie nicht in Widerspruch zu sein braucht.

Sobald man sich aber die Wand als geschlossene Lipoidhaut denkt, und dies hat O v e r t o n tatsächlich getan, hat man zu beweisen, daß solch eine dünne Haut permeabel ist für die verschiedenen Nährstoffe. Bisher sind dergleichen Ideen über die Struktur der Protoplasma wand aber wenig fruchtbar gewesen. Sie dienten meistens nur, um schon bekannte Tatsachen über das Eindringen der verschiedenen Stoffe in den Organismus miteinander in Übereinstimmung zu bringen. Eine ausführliche Besprechung dieses Gegenstandes kann daher zurückbleiben.

Der Zusammenhang zwischen Lipoidlöslichkeit und dem Eindringen der Verbindungen in den Organismus beruht für die gewöhnlichen Lösungen auf einer besonders großen Anzahl Tatsachen, so daß wir erwarten können, daß dieses empirische Gesetz nie verschwinden wird, und immer beim Aufbau neuer Theorien, das Eindringen der Verbindungen betreffend, in Betrachtung genommen werden muß.

Für die kolloiden Lösungen hat R u h l a n d¹⁾ versucht, nachzuweisen, daß hier die Lipoidtheorie nicht an erster Stelle maßgebend ist. Er nimmt an, daß die Protoplasma wand für kolloide Lösungen als ein Ultrafilter wirksam ist, so, daß für die Kolloide, was die Schnelligkeit des Eindringens betrifft, der Dispersitätsgrad der Wand maßgebend ist. Für die Schnelligkeit des Eindringens der Stoffe, welche sich nicht in kolloidalem Zustande befinden, ist die O v e r t o n s c h e Theorie bis heute die einzige zutreffende, und wie im vorhergehenden deutlich geworden ist, bleibt dieselbe noch immer fruchtbar.

Man kann noch untersuchen, weshalb die Verbindungen sich in solch einer verschiedenen Weise verteilen zwischen dem wässerigen Medium und

¹⁾ R u h l a n d, W., Die Plasmahaut als Ultrafilter bei der Kolloidaufnahme. (Ber. d. deutsch. bot. Gesellsch. Bd. 30. p. 139); Studien über die Aufnahme von Kolloiden durch die pflanzliche Plasmahaut. (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 51. 1912. p. 376); Vgl. auch R u h l a n d, W., Kolloidchemische Protoplasma studien. (Kolloid. Zeitschr. Bd. 12. 1913. p. 115.)

dem Organismus. Die Antwort liegt hier auf reinem physiko-chemischem Gebiete. J. Traube hat sich damit beschäftigt¹⁾. Seine Auffassungen werden hier nicht näher besprochen²⁾. Nur lenke ich die Aufmerksamkeit darauf, daß er bei der Verteilung einer Substanz zwischen zwei Lösungsmitteln nicht immer Rechnung hält mit der Oberflächenspannungserniedrigung oder Erhöhung, die diese Substanz in beiden Lösungsmitteln in Zusammenhang miteinander verursacht, sondern vielmehr nur die Größe der Oberflächenspannung der zwei einzelnen Phasen, zwischen welchen man die Verteilung betrachtet, in Anschauung nimmt; es ist denn auch zumal dieser Punkt, der von Overton³⁾ und R. Höber⁴⁾ der Kritik unterworfen wird⁵⁾.

Die absolute Löslichkeit in Wasser und in Lipoid.

Die Zahl der bekannten für *Penicillium glaucum* geeigneten Kohlenstoffquellen wurde beträchtlich vermehrt. Nur einige hochoxydierte Verbindungen wie Kohlensäure und Harnstoff konnten nicht als Kohlenstoffquelle benutzt werden. Die mit einer großen Teilungszahl zusammenhängende schädliche Wirkung kann nur dann zur Äußerung kommen, wenn die Löslichkeit der betreffenden Verbindung in Wasser nicht zu gering ist. Bei geringer Löslichkeit in Wasser dauert es nämlich sehr lange, bis eine für den Organismus schädliche Konzentration in den Lipoidteilen des Protoplasmas erreicht ist, und in solchem Fall kann all dasjenige, welches eindringt, sofort verarbeitet werden (vgl. Tab. 9).

Tabelle 9.

50 ccm Leitungswasser, 0,05% NH_4Cl , 0,05% KH_2PO_4 , 0,02% MgSO_4 .
Temp.: Zimmertemp.

a) Naphthalin.			
Zugef. Quant. in mg	5 ⁶⁾	30 ⁶⁾	102 ⁶⁾
Entwicklung nach 5 Tagen .	+	—	—
„ „ 7 „ .	++	+	—
„ „ 9 „ .	++	+	—
„ „ 14 „ .	++	++	—
b) α -Naphthoëssäure.			
Zugef. Quant. in mg	5	25	95 ⁶⁾
Entwicklung nach 5 Tagen .	+	+	—
„ „ 7 „ .	+	+	—
„ „ 9 „ .	++	+	?
„ „ 14 „ .	++	+	?
c) α -Naphthol.			
Zugef. Quant. in mg	6	30	99 ⁶⁾
Entwicklung nach 14 Tagen	—	—	—
d) β -Naphthol.			
Zugef. Quant. in mg	8	27	99 ⁶⁾
Entwicklung nach 14 Tagen	—	—	—

¹⁾ Zahlreiche Mitteilungen, siehe z. B. Traube, J., Pflügers Arch. Bd. 105. 1904. p. 541; Bd. 123. 1908. p. 419. Der Haftdruck, Beitrag zur Theorie der Lösungen. (Verhandl. d. D. Physik. Gesellsch. Bd. 10. 1908. p. 880.) Englische Übersetzung: The Cohesion-pressure, A theory of solution. (Jon. Vol. I. 1909. p. 312.)

²⁾ Waterman, H. J., Chemisch Weekblad 1914, p. 577.

³⁾ Nagel, W., Handb. d. Physiol. d. Menschen. Berlin 1907. Bd. 2. p. 818.

⁴⁾ Höber, R., Physik. Chem. d. Zelle u. d. Gewebe. 3. Aufl. Leipzig 1911. p. 229.

⁵⁾ Vgl. übrigens Kap.: Ausgangspunkt meiner Versuche und Historische Übersicht.

⁶⁾ Nicht gelöst.

Die Bestimmung der Löslichkeit der untersuchten Verbindungen in Olivenöl gab die folgenden Resultate:

Naphthalin pro 100 g Olivenöl	> 16 , < 24 g
α -Naphthoësäure pro 100 g Olivenöl	> 0,2 , < 1 g
α -Naphthol pro 100 g Olivenöl	> 24 , < 32 g
β -Naphthol pro 100 g Olivenöl	> 8 , < 10,7 g

Die Löslichkeit dieser Verbindungen in Wasser ist gering, das Naphthalin ist nur äußerst wenig löslich. Für das β -Naphthol wird pro 100 g H_2O eine Löslichkeit von: 0,105 g β -Naphthol angegeben¹⁾ (bei 25°).

Die Teilungszahlen des α - und β -Naphthols sind also sehr groß. Diesem Umstande und der genügenden Löslichkeit dieser Verbindungen in Wasser muß man es denn auch zuschreiben, daß sogar bei großen Verdünnungen keine Entwicklung beobachtet wird (Tab. 9).

Naphthalin veranlaßt aber Entwicklung, obgleich die Teilungszahl noch mehr zugunsten der Lipoidsubstanzen liegt. Die absolute Löslichkeit in Wasser ist hier zu gering. Die in der zweiten und dritten Kolumne (Tab. 9) beobachteten hemmende Wirkung des Naphthalin verdient noch besondere Berücksichtigung. Scheinbar ist die physiologische Wirkung gesättigter Lösungen derselben Verbindung nicht immer dieselbe. Doch braucht dies keineswegs der Fall zu sein, da der Gleichgewichtszustand noch nicht erreicht zu sein braucht, so daß die Quantität des sich in der Lösung vorfindenden Naphthalins eine Funktion der Oberflächengröße der ungelösten Partikelchen sein kann. Nähere Untersuchungen müssen hier entscheiden. Zu demselben Typus von Verbindungen gehört auch der Cetylalkohol (Löslichkeit pro 100 g Olivenöl bei 25° > 3, 4 und < 5,4 g); O v e r t o n²⁾ hat beobachtet, daß die gesättigte Lösung keine narkotische Wirkung ausübt. Meine Beobachtung, daß *Penicillium glaucum* sich auf Kosten dieses Alkohols entwickelte, war hiermit also in Übereinstimmung.

Bemerkenswert ist noch die geringe Löslichkeit in Öl der α -Naphthoësäure, verglichen mit der Benzoësäure (4,3 g pro 100 g Olivenöl). Die Naphthalinabkömmlinge scheinen im allgemeinen eine geringere Löslichkeit in Olivenöl als die Benzolderivate zu besitzen (Phenol > 80 und < 93 g pro 100 g Olivenöl).

Hierdurch ist also die Entwicklung auf Lösungen von 0,05 α -Naphthoësäure erklärt (Tab. 9). Die beobachtete kräftige Entwicklung auf Kosten von Olivenöl muß der geringen Löslichkeit dieses Öls in Wasser zugeschrieben werden.

Eine Bestätigung dieser Auffassung fand ich auch beim Studium der Fettsäuren; die Resultate findet man in Tab. 10.

Die für diesen Zweck benutzten Präparate waren grobenteils von K a h l b a u m. Die angegebenen Quantitäten wurden bei der Ameisensäure, Essigsäure, Propionsäure und den Buttersäuren mittels Titrieren bestimmt.

Die Quantitäten der Valeriansäuren wurden mittels Wägung bestimmt, während von den übrigen in Wasser nur wenig löslichen Säuren, wo es Flüssigkeiten betraf, 1 oder 2 Tropfen zugefügt wurden. Von den festen Säuren wurde eine geringe Quantität in die Kulturflüssigkeit gebracht, obgleich dieselbe sich nicht ganz darin auflöste.

Die Teilungszahl Öl : Wasser steigt mit der Zunahme der Anzahl Kohlenstoffatome, demgemäß erniedrigt sich das Schnelligkeitsmaximum. Eine

¹⁾ Seidell, Solub. of inorg. Substances. 1907. p. 208.

²⁾ O v e r t o n, Studien über die Narkose.

Tabelle 10.

Gesättigte einbasische Fettsäuren. Temp.: 20—21° C. Anorg. Nahrung: 0,05% NH_4Cl , 0,05% KH_2PO_4 , 0,02% MgSO_4 , gelöst in 50 ccm Leitungswasser.

Verbindung	No.	Quant. in mg	Entwicklung nach der angegebenen Anzahl Tage					Schnelligkeits- maximum bei	Bemerkungen
			2	3	4	6	10		
Ameisensäure (C_1)	1	9	—	?	+	+	+	sehr niedrige Konzentration	Spärliche Entwicklung
	2	45	—	—	?	?	?		
	3	91	—	—	—	—	—		
Essigsäure (C_2)	1	10	+	+	++	+++	ziemlich stark	50—100 mg	Essigsäure löst sich nicht in allen Verhältnissen in Olivenöl
	2	50	?	+	++	++++	stark ¹⁾		
	3	99	—	++	++	++	stark		
Propionsäure (C_3)	1	9,5	+	+	+	++	++	ca. 50 mg	löst sich in allen Verhältnissen in Olivenöl
	2	48	—	?	+	++	++		
	3	96	—	—	—	++	++		
n-Buttersäure (C_4)	1	11	—	?	+	+	++	ca. 50 mg	löst sich in allen Verhältnissen in Olivenöl
	2	55	—	—	—	+	++		
	3	110	—	—	—	—	++		
Isobuttersäure (C_4)	1	15	?	+	+	+	++		
	2	76	—	?	+	+	++		
	3	152	—	—	—	?	?		
n-Valeriansäure (C_5)	1	29,5	+	++		+++	nicht beobachtet	viel < 67 mg	löst sich in allen Verhältnissen in Olivenöl
	2	67	—	—		?	+		
	3	123	—	—		—	—		
	4	176,5	—	—		—	—		
	5	206	—	—		—	—		
Isovaleriansäure (C_5)	1	8	+	++		++	+++ ¹⁾	viel < 90 mg	
	2	90	—	?		+	+		
	3	95	—	—		+	+		
	4	208	—	—		—	—		
	5	221	—	—		—	—		
Kaprinsäure (C_6)	1	1 Tropf.	?		++	+++	stark		
	2	2 „	—		?	+	+		
Heptylsäure (C_7)	1	1 Tr.	—		—	+	++		
	2	2 Tr. ²⁾	—		—	—	—		
Kaprilsäure (C_8)	1	1 Tr.	+		++	+++	stark		
	2	2 Tr.	—		—	—	—		
Nonylsäure (C_9)	1	1 Tr.	—		?	+	++		
	2	2 Tr. ²⁾	—		—	—	—		
Kaprinsäure C_{10}		sehr kl. Quant.	+		++	+++	stark		
Laurinsäure C_{12}		„ ²⁾	+		++	+++	stark		Pro 100 g Olivenöl bei 25° >12, <16 g Laurinsäure

¹⁾ Lösung und Mycelium rosa gefärbt.²⁾ Nicht alle zugefügte Fettsäure löst sich.

Tabelle 10 (Fortsetzung).

Verbindung	No.	Quant. in mg	Entwicklung nach der angegebenen Anzahl Tage					Schnelligkeits- maximum bei	Bemerkungen
			2	3	4	6	10		
Myristinsäure C ₁₄		sehr kl. Quant. ¹⁾	+		++	++	++		
Palmitinsäure C ₁₆		„ ¹⁾	?		+	+	+		Pro 100 g Olivenöl bei 25° ca. 1 g Palmitinsäure
Stearinsäure C ₁₈		„ ¹⁾	?		+	+	+		Pro 100 g Olivenöl b. 25° > 0,4, < 1 g Stearinsäure
Arachinsäure C ₂₀		„ ¹⁾	?		+	nicht beobachtet			
Kerotinsäure C ₂₆		„ ¹⁾	?		+	+	+		Pro 100 g Olivenöl b. 25° viel < 0,5 g Kerotinsäure

2-proz. Lösung der Essigsäure zeigt nach 10 Tagen noch kräftige Entwicklung, eine gleich konzentrierte Propionsäurelösung gab nach derselben Zeitdauer nur geringe Entwicklung.

Für die Buttersäuren und Valeriansäuren gilt dies noch in stärkerem Grade. Diese Fettsäuren können, dank auch einer genügenden Löslichkeit in Wasser, schnell die Protoplasma wand durchwandern.

Demzufolge wird auch das Schnelligkeitsmaximum erniedrigt, es liegt also bei der Essigsäure bei größeren Konzentrationen als bei den kohlenstoffreicheren Gliedern der Reihe.

Auffallend ist die geringe Entwicklung bei den Versuchen mit Ameisensäure. Dieses abweichende Verhalten wird durch die schädliche Wirkung der Wasserstoffionen (vgl. das folgende Kapitel) verursacht. Alle ersten Glieder der homologen Reihen zeigen ein ähnliches abweichendes Verhalten (Kap.: „Das abweichende Verhalten der Anfangsglieder der homologen Reihen“). Weiter geht aus diesen Versuchen hervor, daß die Verbindung mit der meist verzweigteren Kette am wenigsten schädlich ist (Isobuttersäure und Buttersäure, Isovaleriansäure und Valeriansäure).

Analoge Beobachtungen sind schon von Overton bei anderen Verbindungen gemacht und müssen darauf zurückgeführt werden, daß die Teilungszahl bei den Verbindungen mit der meist verzweigteren Kette am kleinsten ist.

Die höheren Fettsäuren (Kaprinsäure und die folgenden) sind bei den niederen Konzentrationen eine ausgezeichnete Kohlenstoffquelle für *Penicillium glaucum*. Höhere Konzentrationen dieser Säuren gaben aber keine Entwicklung.

Die Löslichkeit dieser Säuren in Wasser ist groß genug, um das zuzufolge der großen Verteilungszahl schnelle Eintreten der Verbindung zu ermöglichen.

Bei der Kaprinsäure und den folgenden Gliedern hat sich die Löslichkeit in Wasser stark erniedrigt. Wir sind denn auch nicht mehr imstande,

¹⁾ Nicht alle zugefügte Fettsäure löst sich.

mit Lösungen dieser Verbindungen in Wasser, die Entwicklung von *Penicillium glaucum* zu hemmen. Hierzu kommt noch die Erniedrigung der absoluten Löslichkeit in Olivenöl. Während bei der Laurinsäure sich noch mehr als 12 g pro 100 g Olivenöl lösen, ist bei der Palmitinsäure die Löslichkeit schon auf 1 g pro 100 g Olivenöl gekommen.

Die Löslichkeit der Kerotinsäure ist schließlich wieder geringer als diejenige der Stearinsäure, welche wiederum kleiner als die Palmitinsäure ist. Die geringe Entwicklung bei der Palmitin-, Stearin-, Arachin- und Kerotinsäure muß hauptsächlich der äußerst geringen Löslichkeit in Wasser zugeschrieben werden, da diese Säuren, dank sei auch einer geringen Löslichkeit in Öl, nur äußerst langsam eindringen und also nur spärliche Entwicklung verursachen können.

In diesen speziellen Fällen sahen wir also Beispiele einfacher Sätze der nährenden und hemmenden Wirkung von in Öl löslichen Verbindungen, die sich, andere Faktoren außer Betracht lassend, werden gelten lassen.

Wir werden ausgehen von der Annahme, daß die Verbindungen alle gleich gut als einzige Kohlenstoffquelle dienen können, was natürlich nicht vollkommen richtig ist.

A. Die Verbindungen sind gut löslich in Wasser und in Öl. In diesem Falle wird die Schnelligkeit des Eindringens beherrscht von der Größe der Teilungszahl Öl : Wasser. Die niedrigen Konzentrationen geben kräftige Entwicklung, die höheren verursachen im Anfang Hemmung und schließlich wird keine Entwicklung beobachtet.

B. Die Verbindungen sind gut löslich in Wasser und nicht in Öl. Von Überbürdung ist in diesem Falle keine Rede. Sogar Lösungen von außerordentlich großer Konzentration geben noch Entwicklung. Es ist selbstredend, daß man zwischen A und B mehrere Übergangszustände haben wird.

C. Die Verbindung ist unlöslich in Wasser und löslich in Öl. In diesem Falle kann keine Entwicklung stattfinden, weil die Verbindung nicht im Organismus kommen kann. Sobald die Verbindung aber eine geringe Löslichkeit in Wasser besitzt, können wir mehrere Zwischenstufen unterscheiden.

Hierbei haben wir keine Rechnung gehalten mit zahlreichen anderen Faktoren. So wird z. B. die Wirkung eines Narkotikums desto kräftiger sein, je kleiner seine Angreifbarkeit von dem betreffenden Organismus, m. a. W., je geringer die Möglichkeit für chemische Umwandlung. An der anderen Seite werden viele Verbindungen gerade wegen ihrer chemischen Wirksamkeit eine schädliche, wenn auch keine narkotische Wirkung ausüben.

Die Tatsache, daß Stoffe, wie Naphthalin, Cetylalkohol, Olivenöl usw. die Entwicklung von *Penicillium glaucum* nicht hemmen, veranlaßt mich noch zu einigen Betrachtungen über die Natur der Wand des Protoplasmas. Durch diese Versuche ist nämlich dargetan, daß diese Wand nie eine Ölschicht ohne weiteres sein kann. Wäre es eine sofort zugängliche Ölschicht, so würden die obengenannten Stoffe doch narkotisch wirksam sein. Durch diese Untersuchungen ist zumal die Aufmerksamkeit darauf gelenkt, daß für ein starkes Narkotikum, neben einer großen Teilungszahl Lipoid : Wasser, eine einigermaßen beträchtliche Löslichkeit in Wasser notwendig ist.

Da die Antiseptika für einen wichtigen Prozentgehalt Narkotika sind, ist die Bedeutung für die Praxis sofort klar. Auch für ein anderes mehr theo-

retisches Problem fragt die geringe oder sogar fehlende narkotische Wirkung von in Wasser fast unlöslichen Verbindungen unsere Aufmerksamkeit. Es ist nämlich in Zusammenhang mit der schon besprochenen Untersuchung von Ruhl and über die Aufnahme von sich in kolloidaler Lösung vorfindenden Substanzen. Die Gesetze von Overton, daß eine in Lipoid gut lösliche Verbindung immer schnell eindringen muß, sind hier nicht maßgebend. Unerwartet ist dies aber gar nicht, denn die Tatsache, daß die in Wasser fast unlöslichen Substanzen, trotz großer Lipoidlöslichkeit, so langsam eindringen, erklärt zu gleicher Zeit, weshalb die sich in kolloidaler Lösung vorfindenden Verbindungen, welche sich gut in Öl lösen, meistens nicht oder nur langsam eintreten. Je mehr sie sich aber den echten Lösungen nähern werden, desto größer ist die Möglichkeit, daß sie sich als echte Narkotika verhalten werden¹⁾.

Die Wirkung wässriger Lösungen der zweibasischen Säuren der Oxalsäurereihe, die Wirkung der Wasserstoffionen und die Natur der Protoplasma-wand.

§ 1. Oxalsäure und verwandte Verbindungen.

Bei dieser Klasse von Verbindungen ist im voraus zu sagen, daß die narkotische Wirkung wenigstens bei den ersten Gliedern wenig in den Vordergrund treten kann. Ich habe nämlich nachgewiesen, daß die Verteilung Öl: Wasser bei allen diesen Verbindungen, mit Ausnahme der höheren Glieder, sehr stark zugunsten des Wassers liegt. Was die höheren Glieder, wie Azelaïn- (C_9) und Sebazinsäure (C_{10}) betrifft, diese werden schwer löslich in Wasser, bekommen Fettcharakter und demzufolge haben dergleichen Verbindungen Teilungszahlen, die von derselben Größenordnung sind als diejenige der Paraoxybenzoësäure.

Bei der Oxalsäure war es wahrscheinlich, daß die hohe Oxydationsstufe, die nicht viel von derjenigen der Kohlensäure verschieden ist, eine geringe Assimilierbarkeit verursachen würde. Weiter war es möglich, daß auch die Wirkung der Wasserstoffionen hier zur Äußerung käme. Schon ziemlich geringe Wasserstoffionen-Konzentrationen üben einen deutlich hemmenden Einfluß auf die Entwicklung aus (Tab. 11). Bei unseren Versuchen benutzten wir Schwefelsäure. Daß die Sulfation keinen Einfluß haben würde, konnte vorausgesetzt werden. Dies wurde noch dargetan durch vergleichende Versuche mit analogen Quantitäten Ammoniumsulfat. Bei den großen Schwefelsäureverdünnungen, womit gearbeitet wurde, konnte eine praktisch vollständige Dissoziation von H_2SO_4 in SO^{II}_4 und $2 H^+$ vorausgesetzt werden. Die Quantität der vorhandenen Wasserstoffionen wurde also berechnet an der zugefügten Quantität Schwefelsäure ($\frac{2}{98}$ des Gewichtes).

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß schon 0,6 mg Wasserstoffionen pro 50 ccm einen deutlich hemmenden Einfluß ausüben (die H-Ionen der Paraoxybenzoësäure vernachlässigend).

Diese Quantität stimmt überein mit ± 50 mg H_2SO_4 pro 100 ccm (d. i. also 1 ccm N-Schwefelsäure pro 100 ccm).

Weiter habe ich Oxalsäure und verwandte Säuren geprüft. Die Resultate findet man in Tab. 12 und 13. Die erhaltenen Resultate über die Wirkung

¹⁾ Zu ähnlichem Schlusse ist auch R. Höber gekommen. (Biochem. Zeitschr. Bd. 50. 1913. p. 418.)

Tabelle 11.

50 ccm Leitungswasser, 0,05 % NH_4Cl , 0,05 % KH_2PO_4 und 0,02 % MgSO_4 wasserfrei, somit 0,15 g p. Oxybenzoesäure.

A. Schwefelsäure.

No.	Zugefügte Quantität normal Schwefelsäure in ccm	Zugefügte Quantität H_2SO_4 in mg	Quantität H-Ionen in mg	Entwicklung nach				
				2	4	6	9	13 Tagen
1	—	—	—	+	++	+++	++++	++++
2	—	—	—	+	++	+++	++++	++++
3	0,04	2	0,04	+	++	+++	++++	++++
4	0,11	5	0,1	+	++	+++	++++	++++
5	0,17	8	0,2	+	++	+++	++++	++++
6	0,60	29	0,6	—	—	?	+	+
7	0,95	47	0,9	—	—	—	—	—
8	1,94	95	1,9	—	—	—	—	—

B. Ammoniumsulfat.

No.	Zugefügte Quantität $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ in mg	Entwicklung nach				
		2	4	6	9	13 Tagen
1	—	+	++	+++	++++	++++
2	—	+	++	+++	++++	++++
3	3	+	++	+++	++++	++++
4	7,7	+	++	+++	++++	++++
5	10,6	+	++	+++	++++	++++
6	40,8	+	++	+++	++++	++++
7	65,—	+	++	+++	++++	++++
8	131,—	+	++	+++	++++	++++

der Schwefelsäure (Tab. 11) erklären die Tatsache, daß schon geringe Konzentrationen der Oxalsäure in Gegensatz mit äußerst geringen Konzentrationen, nicht von *Penicillium* angegriffen werden. Auch wird dadurch die schädliche Wirkung von großen Weinsäurekonzentrationen im Gegensatz mit der Bernsteinsäure verständlich. Kaliumbitartrat ist wegen der geringeren Anzahl Wasserstoffionen, zumal in größerer Konzentration, weniger schädlich als die freie Weinsäure. Oxalsäure hemmt bei genügender Wasserstoffionenkonzentration auch die Entwicklung von *Penicillium glaucum* auf Kosten von anderen Kohlenstoffquellen, z. B. Paraoxybenzoesäure, während Ammoniumoxalat dazu nicht imstande ist (Tab. 13). Dies ist auch ein Beweis dafür, daß das Oxalation nicht schädlich ist. Doch beobachte ich, daß sogar Oxalsäurelösungen mit einer Wasserstoffionen-Konzentration < die schädliche, nur geringe Entwicklung zeigen. Auch das Ammoniumoxalat wird nur langsam assimiliert. Es ist eine spezifische Eigenschaft des Oxalsäuremoleküls, die, wie oben schon angegeben, seiner hohen Oxydationsstufe zuzuschreiben ist.

Übrigens ist es wieder ein Beispiel der abweichenden physiologischen Eigenschaften der ersten Glieder der homologen Reihen, ebenso wie wir dies bei der Ameisensäure beobachtet haben.

Die schädliche Wirkung der Wasserstoffionen findet man außer bei der Oxalsäure, bei der Weinsäure und der Malonsäure.

Tabelle 12.

Oxalsäure und verwandte Verbindungen.
50 ccm mit der bekannten anorganischen Nahrung.

Abgewogene Quantität in mg		Entwicklung nach			Bemerkungen
		4	6	15 Tagen	
A.					
Oxalsäure	5,5	+	+	++	Teilungszahl Öl : Wasser sehr klein
(2 Aq.)	27,0	+	+	++	
C ₂	97,5	—	+ (gering)	++	
	497	—	—	—	
	1498	—	—	—	
Malonsäure	5,5	+	++	++	Teilungszahl Öl : Wasser sehr klein
C ₃	26	+	++	+++	
	95	++	+++	++++	
	497,5	—	+	++	
	1496	—	—	—	
	2500	—	—	—	
Bernsteinsäure	6	+	+	++	Kulturflüssigkeit ist rosa ge- färbt Kulturflüssigkeit ist rosa ge- färbt Teilungszahl ($\sqrt{25^0}$) sehr klein
C ₄	25	+	++	+++	
	95	++	+++	++++	
	498	++	+++	++++	
	1500	+	++	++++	
Glutarsäure	4	+	++	++	
C ₅	25	+	++	+++	
	101	++	+++	+++	
	500	—	+	+	
Azelainsäure	5	+	+	+++	$\sqrt{25^0} = 0,2$ Kristallabscheidung
C ₉	24,5	+	+++	+++	
	95	+	++	++++	
	494,5	—	+	+++	
Sebazinsäure					$\sqrt{25^0} = 0,3$ Kulturflüssigkeit ist rosa gef., Kristallabscheidung " " "
C ₁₀	5,5	+	++	++++	
	25	++	+++	++++	
	98	+	+++	++++	
B.					
Malonsäure	5	?	+		$\sqrt{25^0}$ sehr klein
C ₃	25	+	+		
	50	+	++		
	70	+	++		
	100	+	++		
	200	+	+++		
	300	—	++		
	400	—	+		
Glutarsäure	5	—	+		
C ₅	25	+	++		
	50	+	++		
	75	+	++		
	100	+	++		
	200	+ (gering)	+++		
	350	—	+		

Tabelle 12 (Fortsetzung).

Abgewogene Quantität in mg		Entwicklung nach			Bemerkungen
		2	6 Tagen		
Azelaensäure C ₉	5	+	++		$\sqrt{25^\circ} = 0,2$ Kristallabscheidung
	25	+	+++		
	50	+	+++		
	75	?	+++		
	100	—	++		
	200	—	+		
	500	—	+		
Sebazinsäure C ₁₀	5	?	+		$\sqrt{25^\circ} = 0,3$ } Kristallabscheidung
	25	++	+++		
	50	+	+++		
	75	+<	+++		
	100	+<	+++		
C. d-Weinsäure		2	5	13	$\sqrt{25^\circ}$ ist sehr klein
	10	+	++	++	
	51	+	++	+++	
	101	+	++	+++	
	301	+	++<	++++	
	501	?	+	+++	
Kaliumtartrat	10	+	++		
	100	?	++		
	500	+	++		
Kaliumbitartrat	10	+	++		
	100	+	+++		
	500	+	+++		
D Oxalsäure (2 Aq.)		2	3	5	$\sqrt{25^\circ}$ ist sehr klein
	7	?	+	+	
	17,5	?	?	+	
	29	?	+	+	
	60	—	?	+	
	81	—	—	+	
Ammonium- oxalat	101	—	—	+	
	7	?	?	+	
	30	?	+	+	
	102	+	+	+	
E Bernsteinsäure C ₄	300	+	+	+	$\sqrt{25^\circ}$ sehr klein rosa gefärbt " "
	500	+	++	++	
	1000	++	++	++	
	2000	+	++	++	
	3000	—	++	++	
	100	+	++	++	
	500	?	+	++	
Bernsteinsaures Natrium	1000	—	+	++	
	2000	—	+	++	
	3000	—	+	++	
	100	+	++	++	
	500	?	+	++	

Tabelle 12 (Fortsetzung).

Abgewogene Quantität in mg	Entwicklung nach			Bemerkungen
	2	4	Tagen	
F				
Bernsteinsäure 100	+	++		$\sqrt{25^\circ}$ sehr klein
C ₄ 300	+	++		
500	+	++		
1000	+	++		
Suberinsäure ¹⁾ 5	?	+		$\sqrt{25^\circ} = 0,2$
C ₈ 25	+	+		
50	+	++		
100	—	+		
200	—	—		

Tabelle 13.

Vergleichung der hemmenden Wirkung von Oxalsäure und von Ammoniumoxalat auf die Entwicklung von *Penicillium glaucum* auf Kosten von p-Oxybenzoesäure.

No.	Para-Oxy- benzoesäure in mg	Abgewogene Quantität (mg)	Entwicklung nach		
			2	7 Tagen	
		Oxalsäure (2 Aq)			
1	150	—	+	++	
2	150	10	+	++	
3	150	25	—	+	
4	150	40	—	?	
5	150	60	—	—	
6	150	80	—	—	
7	150	150	—	—	
		Ammoniumoxal.			
8	150	40	+	++	Das Oxalation, welches als solches nicht leicht assimiliert wird, stört die Verarbeitung der Paraoxy- benzoesäure nicht.
9	150	80	+	++	
10	150	150	+	++	
11	150	300	+	++	

Aus der Untersuchung geht hervor, daß eine ausgezeichnete Entwicklung in großen Bernsteinsäurekonzentrationen stattfindet; bei den höheren Gliedern der Oxalsäurereihe wird die meist günstige Konzentration immer niedriger, welches wir der größeren Teilungszahl Öl : Wasser zuschreiben müssen. In stärkerem Grade ist dies der Fall bei der Suberin-Azelain- und Sebazinsäure der Fall.

Die Teilungszahl Öl : Wasser wird da schon ziemlich groß, nicht aber wegen der großen Löslichkeit in Olivenöl, sondern wegen der bei diesen Säuren nur geringen Löslichkeit in Wasser.

	Suberin- säure	Azelain- säure	Sebazin- säure
Pro 100 g Olivenöl (bei 25°)	0,06 g	0,07; 0,09	0,04; 0,03
„ 100 g Wasser ²⁾ (bei 25°)	± 0,3	± 0,35	± 0,2

Mit der Zunahme der Anzahl Kohlenstoffatome in der Kette wird die schädliche Wirkung der Verbindung größer. Von den zweibasischen Säuren

¹⁾ Gemische von Suberin- und Azelainsäure.

²⁾ L a m o u r o u x, Compt. rend. T. 128. 1899. p. 999.

ist also die Bernsteinsäure die meist geeignete Kohlenstoffquelle für *Penicillium glaucum*. Sie hat eine geringe Teilungszahl und sogar ziemlich konzentrierte Lösungen enthalten nur wenig H-Ionen.

Die Einführung einer Methylgruppe wirkt im allgemeinen schädlich, auch wenn dies in der Seitenkette stattfindet (vgl. Tab. 14).

Tabelle 14.
Einfluß der Methylgruppe in der Seitenkette.

Namen der Verbindung und Quantität in mg		Entwicklung nach		
		2	4 Tagen	
A				
Bernsteinsäure	100	+	++	
	300	+	++	
	500	+	++	
	1000	+	++	
as-Dimethylbernsteinsäure	100	?	+	
	200	?	+	} gering
	300	—	+	
B		2	5	10 Tagen
Bernsteinsäure	100	+	+++	++++
	300	+	+++	++++
	500	+	+++	++++
	1000	++	+++	++++
	2000	+	++	+++
	3000	—	++	+++
Monomethylbernsteinsäure	50	+	++	+++
	100	+	++	+++
	300	?	+	+++
Dimethylbernsteinsäure (Smpt. 87° ¹⁾)	50	+	+	++
	100	+	+	++
	300	?	+	++
	500	—	+	++
Dimethylbernsteinsäure (Smpt. 42° ¹⁾)	50	+	+	++
	100	?	+	++
	300	—	+	++

Die in Tab. 12 und 13 vereinigten Resultate können durch einige Berechnungen noch näher erläutert werden. Die Dissoziationskonstante (Ostwald: $K = 100 k$) von einigen untersuchten Säuren ist:

	K
Weinsäure	0,097
Malonsäure	0,158
Bernsteinsäure	0,0066
Glutarsäure	0,0047
Adipinsäure	0,0037
Pimelinsäure	0,0036
Suberinsäure	0,0026
Azelainsäure	0,0025

¹⁾ J. Böeseken, Schweizer et v. d. Want, Études sur la configuration des systèmes annulaires. (Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas et de la Belgique, T. 31. 1912. p. 86.)

Ameisensäure	0,0214
Sebazinsäure	0,0023
Salizylsäure	0,102
Paraoxybenzoësäure . . .	0,0029
Metaoxybenzoësäure . . .	0,0087
Protocatechusäure	0,0033
Gallussäure	0,004
Gentisinsäure	0,108

Wenden wir die Formel: $v \frac{a^2}{(1-a)} = k$ an

a = Dissoziationsgrad; $k = \frac{K}{100}$; V = Volumen in Litern, welches 1 Grammol. der Verbindung gelöst enthält.

Weinsäure $k = 0,00097$.

Betrachten wir es als 1 bas. S und wenden wir die obengenannte Formel an:

a) 300 mg der Weinsäure pro 50 ccm, d. i. 6 g pro Liter. $a = 0,15$

Also pro 50 ccm: $0,15 \cdot \frac{300}{150}$ mg H-Ionen = 0,0003 g H-Ionen.

b) 400 mg der Weinsäure pro 50 ccm $a = 0,12$; pro 50 ccm: $0,12 \cdot \frac{400}{150}$ mg = 0,0003 g H-Ionen.

c) 1000 mg der Weinsäure pro 50 ccm; $a = 0,08$; pro 50 ccm: $0,08 \cdot \frac{1000}{150}$ mg = 0,0005 g H-Ionen.

Aus diesen Zahlen geht im Zusammenhang mit den Versuchen mit Schwefelsäure (Tab. 11) sofort hervor, daß in einer Lösung mit 1000 mg Weinsäure pro 50 ccm nur geringe Entwicklung stattfinden kann.

Die Zufügung von 100 mg Gentisinsäure erhöht die Quantität der Wasserstoffionen pro 50 ccm mit 0,00016 g (abgesehen von der gegenseitigen Beeinflussung der Ionen). Durch diese Gentisinsäurezufügung wird die schädliche Wirkung der Wasserstoffionen schon bei niedriger Weinsäurekonzentration erreicht (Tab. 15).

Tabelle 15.
Zufügung der Gentisinsäure an Kulturflüssigkeiten mit Weinsäure.

Namen der Verbindung		Entwicklung nach			
		2	3	5	10 Tagen
d-Weinsäure	mg				
	10	+	++	++	++
	51	+	++	++	+++
	101	+	++	++	+++
	301	+	+	++	++++
	501	?	+ (gering)	++	+++
	1001	?	?	+	?
d-Weinsäure + Gentisinsäure					
Weinsäure	Gentisinsäure				
mg	mg				
300	100	—	—	—	—
500	100	—	—	—	—
1001	100	—	—	—	—

Malonsäure: 500 mg pro 50 ccm. $a = 0,12$. Hierin sind also 0,0006 mg H-Ionen. Es kann uns deshalb nicht wundern, daß in einer 1-proz. Malonsäurelösung die Entwicklung nur äußerst langsam stattfindet.

Salizylsäure: Betrachten wir eine Lösung von 100 mg pro 50 ccm $\alpha = 0,22$; 0,00016 g H-Ionen pro 50 ccm.

Von einer deutlich hemmenden Wirkung der H-Ionen auf *Penicillium glaucum* werden wir bei solch einer Lösung noch nichts beobachten können, und dies gilt natürlich in noch stärkerem Grade für die Gallussäure und Protokatechusäure.

Oxalsäure. Aus Tab. 13 geht hervor, daß 50 mg Oxalsäure in 50 ccm gelöst mit einer Wasserstoffionenquantität von $\pm 0,0006$ g übereinstimmt.

Ostwald¹⁾ gibt an:

	$\mu_{\infty} = 365?$	
V	μ	100 m
32	267	73,1
64	299	81,9
128	324	89,0

In unserem Falle 50 mg Oxalsäure (MG 126) pro 50 ccm, d. i. 1 g pro Liter $V = 126 \text{ m} = 0,9$.

In der betreffenden Lösung sind also: $\pm 0,9 \cdot \frac{1}{126} \cdot 50 = \text{fast } 0,4 \text{ mg}$ H-Ionen. Durch rohe Annäherung fanden wir (s. o.) 0,6 mg H-Ionen. — Diese Zahlen sind von derselben Größenordnung.

Obgleich ich mit diesen Versuchen keine Bestimmung von Wasserstoffionenkonzentrationen beabsichtigte, war doch mit Sicherheit festgestellt, daß die Wasserstoffionen unabhängig von dem Säurereste einen schädlichen Einfluß ausüben.

Ein interessantes Beispiel der Wirkung der Wasserstoffionen finden wir auch bei der Antiweinsäure. In Zusammenhang mit der kleineren Dissoziationskonstante dieser Säure, beobachtete ich, daß höhere Konzentrationen die Entwicklung von *Penicillium glaucum* weniger hemmten als Lösungen gleicher Konzentration der Links- und Rechtssäure (vgl. Tab. 16).

Tabelle 16. Temp. 20—21°.

Name der Verbindung	No.	Quantität in mg	Entwicklung nach			Dissoziations- konstante ²⁾
			2	4	6 Tagen	
Rechtsweinsäure	1	52	+	+	++	0,097
	2	102	+	+	++	
	3	304	+	+	++	
	4	500	?	+	++	
	5	1000	?	+	++	
Linksweinsäure	1	52	?	+	++	0,097
	2	100	?	+	++	
	3	300	?	+	++	
	4	500	?	+	++	
	5	1002	?	+	++	
Antiweinsäure	1	50	+	+	++	0,060
	2	102	+	+	++	
	3	304	+	+	++	
	4	501	+	+	++	
	5	1002	+	+	++	

Zufällig wurde beobachtet, daß bei der Versuchsreihe über die Wirkung der Wasserstoffionen, in jener Flasche, wo erst nach längerer Zeit Entwicklung

¹⁾ Ostwald, Zeitschr. f. physik. Chem. 3. 1889. p. 171, 281.

²⁾ Bischoff u. Walden, Ber. d. Deutsch. Chem. Ges. 22. 1889. 1819.

stattfand (d. h. bei der Zufügung von 29 mg H_2SO_4 pro 50 ccm) das Mycelium verschrumpft war, es war dabei orange-gelb gefärbt. Da dieser Farbstoff in der Lösung diffundiert, wird letzterer allmählich gelb. Demzufolge wurde diese Farbreaktion vermutlich von der Wirkung der Wasserstoffionen verursacht. Tatsächlich beobachtete ich auch in anderen Fällen, wo eine analoge Quantität Wasserstoffionen wirksam gewesen war, Gelbfärbung; dies war z. B. der Fall bei der d-Weinsäure, in geringerem Grade bei einer 1-proz. Lösung und stärker, bei der 2-proz. Lösung, wie ich einen Monat nach der Impfung beobachtete. Auch bei der Linksweinsäure trat die Reaktion, wenn auch mit weniger Intensität auf, während ich schon früher die gelbe Farbe bei Lösungen mit 0,15 g Para-Oxybenzoesäure und 60 mg Oxalsäure beobachtet hatte. Vermutlich haben wir hier eine Beschädigung der Plasmawand; in vielen Hinsichten erinnert die Erscheinung an die Hämolyse.

Auch in einigen anderen Fällen wurde Gelbfärbung wahrgenommen, z. B. bei den Versuchen über die Wirkung des Pentachlorpropionamids auf *Penicillium glaucum*. Weiter beobachtete ich noch das Auftreten einer Rosenfarbe, bei kultivieren auf zahlreiche Verbindungen, zumal aliphatische, z. B. Weinsäure (niedrige Konzentrationen), Essigsäure, somit bei einigen hydroaromatischen Körpern wie Inosit.

§ 2. Eine Erklärung der Wirkung der Wasserstoffionen in Zusammenhang mit der Natur der Plasmawand.

In § 1 habe ich festgestellt, daß die schädliche Konzentration der Wasserstoffionen unabhängig ist vom Säurereste und bei *Penicillium glaucum* bei ca. $1 \cdot 10^{-5}$ g Aeq. H^+ liegt. Bei *Aspergillus niger* lag die schädliche Konzentration viel höher ($4,5 \cdot 10^{-6}$).

Für die Erklärung der Wirkung der H-Ionen wurde gedacht an eine durch diese geladenen Teilchen verursachte Ausflockung der Plasmawand, letztere als kolloidale Lösung betrachtend.

In Zusammenhang hiermit verweise ich nach den Untersuchungen von Michaelis und Takahashi¹⁾. Sie beobachteten bei frischen Blutkörpern in einem isotonischen Medium Hämolyse bei einer H^+ -Konzentration von $1,0 \cdot 10^{-5}$. Das Optimum der Koagulation der Stromasubstanz von den Blutkörperchen lag demgemäß bei $1,0 \cdot 10^{-5}$ (Genauigkeit ± 50 Proz.).

Nach Michaelis und Takahashi müssen wir das Austreten des Farbstoffs dadurch erklären, daß die elektrische Ladung der Eiweißstoffe durch die Wirkung der H-Ionen neutralisiert wird, so daß die ersteren nicht mehr imstande sein würden, die Farbstoffe festzuhalten.

Man kann sich analoge Verhältnisse bei *Penicillium glaucum* denken. Die Plasmakolloide dieses Pilzes werden alsdann eine negativ elektrische Ladung besitzen. Wird der isoelektrische Punkt erreicht, so findet Ausflockung statt, und dadurch Störung der Lebensfunktionen und Hemmung der Entwicklung.

In dieser Hinsicht will ich auch einige Resultate von Feinschmidt²⁾ zitieren über die Ausflockung von Lecithin- und Lecithineiweißgemisches durch die Wasserstoffionen. Er fand bei verschiedenen Lecithinsuspensionen Ausflockungsoptima bei H-Ionenkonzentrationen von $2 \cdot 10^{-4}$ bis 2 à $3 \cdot 10^{-2}$. Er beobachtete, daß das Ausflockungsoptimum auch hier mit dem isoelek-

¹⁾ Biochem. Zeitschr. Bd. 29. 1910. p. 439; Bd. 30. 1911. p. 143.

²⁾ Biochem. Zeitschr. Bd. 38. 1912. p. 244.

trischen Punkt zusammentraf. Bei höheren Wasserstoffionenkonzentrationen wanderte das Lecithin nach der Kathode, bei den niedrigeren nach der Anode. Wenn man statt Lecithin ein Lecithin-Eiweißgemisch nahm, wurde eine Suspension mit einem schon bei niedrigeren H^0 -Konzentrationen liegenden Ausflockungsoptimum erhalten. Doch ist diese Auffassung über die Natur der schädlichen Wirkung der Wasserstoffionen, welche also auf eine Ausflockung der kolloidalen Plasmabestandteile zurückgeführt wird, nur eine vorläufige.

Denn sogar bei künstlich dargestellten Lecithin- und Cholesterinsuspensionen¹⁾ sind die Resultate noch keineswegs sicher. Fortwährend hat man Abweichungen und Ausnahmen. Man denke nur an dem abweichenden Verhalten der Hg-Salze, die weder bei den Lecithin- noch bei den Cholesterinsuspensionen Ausflockung verursachen. Mittels der Lipoidlöslichkeit des Sublimates, hat man dies zu erklären versucht, aber es ist noch fraglich, inwieweit die schweren Metallionen als solche die Ursache der Ausflockung sind, oder das dieselbe von den durch hydrolytische Spaltung entstandenen Metallhydroxyden²⁾ verursacht wird.

Die chemische Bindung bei der antiseptischen Wirkung.

Die betreffenden Versuche sind schon früher an anderer Stelle³⁾ beschrieben worden. Hier seien nur einige der wichtigsten Resultate mitgeteilt:

Die Borsäure übt schon in geringer Konzentration ($\pm 0,06$ Proz.) eine schädliche Wirkung aus, welche aber abhängig ist von den organischen Stoffen, welche sich in der Nährlösung vorfinden. Je stärker die Bindungsfähigkeit dieser Stoffe für die Borsäure, desto schwächer ist die antiseptische Wirkung.

Es ist wahrscheinlich, daß die für den Organismus schädliche Wirkung der Borsäure und vieler anderen organischen Verbindungen auf selektive chemische Bindung zurückgeführt werden muß.

Das abweichende Verhalten der Anfangsglieder der homologen Reihen.

Oben sah man schon, daß unter den Fettsäuren die Ameisensäure eine Ausnahmestelle einnimmt: Ich beobachtete nun, daß alle ersten Glieder der homologen Reihen schädlicher sind, als mit ihrer Teilungszahl Öl:Wasser übereinstimmt, nur gilt dies nicht für die aromatischen Verbindungen.

Da die betreffenden Verbindungen die Entwicklung auf anderen Nährboden meistens nicht hemmen, ist die Ursache der Erscheinung die weniger leichte Assimilierbarkeit, die auf den Vordergrund tritt, sobald sie als einzige Kohlenstoffquelle benutzt werden.

Der Organismus kann offenbar die betreffenden Verbindungen nur langsam in die notwendigen Bestandteile umwandeln. Da die schwere Angreifbarkeit ohne weiteres schon genügt, um den schädlichen Einfluß der Verbindung zu steigern, ist es sofort begreiflich, daß die niederen Glieder der Reihe schädlicher sein können als die hierauf folgenden, wenn auch bei letzteren die Verteilung Lipoid:Wasser größer ist.

¹⁾ Vgl. Porges u. Neubauer, Biochem. Zeitschr. Bd. 7. 1908. p. 152.

²⁾ Biltz, Ber. d. deutsch. Chem. Ges. Bd. 37. 1904. p. 1095; Neisser u. Friedemann, Münch. med. Wochenschr. 1904. p. 828; Pauli, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 1905. p. 253.

³⁾ Böeseken, J. u. Waterman, H. J., Über die Wirkung der Borsäure und einiger anderer Verbindungen auf die Entwicklung von *Penicillium glaucum* und *Aspergillus niger*. (Folia microbiol. Holländ. Beitr. z. ges. Mikrobiol. 1. 1912. p. 342.)

In Tab. 17 findet man die Untersuchungen über den Methyl- und Äthylalkohol.

Tabelle 17.
Methylalkohol und Äthylalkohol als einzige Kohlenstoffquelle.

a) Methylalkohol.

	No.						
	1	2	3	4	5	6	7
mg pro 50 ccm Flüssigkeit.	3,5	15	28	95	150	200	773
Entwicklung nach 2 Tagen	+	+	+	+	+	+	+ (gering)
„ „ 3 „	+	+	+	+	+	+	+, < 6
„ „ 7 „	++	++	++	++	++	++	++

b) Äthylalkohol.

	No.				
	1	2	3	4	5
mg pro 50 ccm Flüssigkeit .	4	13	70	210	756
Entwicklung nach 2 Tagen .	+	+	+	+	+ (gering)
„ „ 3 „ .	+	+	+	+	+, < 4
„ „ 7 „ .	++	+++	++++	++++	++

Man sieht, daß *Penicillium glaucum* viel üppiger auf Äthyl- als auf Methylalkohol wächst. Zumal bei den höheren Konzentrationen ist der Unterschied deutlich. Daß die Entwicklung in der 1,5-proz. Äthylalkohollösung weniger ist als in der 0,4-proz. Lösung, muß einer Überbürdung des Organismus, in Zusammenhang mit der Teilungszahl Öl: Wasser zugeschrieben werden. Nach Overton¹⁾ ist die Teilungszahl des Äthylalkohols 0,03, von dem Methylalkohol ist dieselbe viel kleiner. Die schädliche Wirkung des Äthylalkohols würde also bei höheren Konzentrationen eher als die des Methylalkohols zur Äußerung kommen. In Wirklichkeit ist es gerade umgekehrt. Die Ausnahmestellung der Oxalsäure ist schon ausführlich besprochen, während die Eigenschaften des Formaldehyds als allgemein bekannt vorausgesetzt werden können.

Schließlich gehört zu den ersten Gliedern auch die Kohlensäure als Oxyameisensäure betrachtet, welche gar nicht assimiliert wird, während andere Oxy Säuren wie Glykolsäure, Glycerinsäure usw. wohl assimiliert werden.

Die Oberflächenspannung bei der Wirkung der wasserlöslichen Stoffe auf den Organismus.

Die betreffenden Versuche sind schon früher an anderer Stelle*) beschrieben worden. Da ist mit Bestimmtheit nachgewiesen, daß die Unterschiede in physiologischer Wirkung zwischen 0,1-proz. Lösungen von o-, m- und p-Oxybenzoesäure nicht mittels Oberflächenspannungsunterschiede erklärt werden können. Übrigens sei nach der in der Fußnote angegebenen Mitteilung verwiesen.

Zusammenfassung.

1. Einige aromatische Verbindungen, wie Para- und Metaoxybenzoesäure, Protocatechusäure und Gallussäure, sind als einzige organische Nahrung

¹⁾ Overton, Studien über die Narkose. Jena 1901.

²⁾ Böeseken, J. u. Waterman, H. J., Zeitschr. f. Chem. u. Ind. d. Kolloide. Bd. 11. 1912. p. 58.

für *Penicillium glaucum* geeignet. Verwandte Verbindungen, wie Salizylsäure und Pyrogallokarbonsäure, sind dazu nicht oder fast nicht imstande.

2. Mittels systematischer Untersuchungen wurde die Anzahl der zu diesen beiden in 1. genannten Gruppen von Verbindungen beträchtlich vermehrt.

3. Dabei wurden zu gleicher Zeit einige allgemeine Eigenschaften beobachtet. So hat die Einführung einer Methylgruppe einen schädlichen Einfluß; die methylierte Verbindung wird weniger gut als einzige organische Nahrung dienen können.

Eine Vergrößerung der Anzahl Hydroxyl- oder Karboxylgruppen als Substituenten im Benzol, erniedrigt im allgemeinen die schädliche Wirkung der Verbindung.

4. Anfangs meinte ich, die beobachteten Unterschiede in physiologischer Wirkung in konstitutiver Weise erklären zu können.

A priori war zu erwarten, daß der gesuchte Zusammenhang zwischen chemischer Konstitution und physiologischer Wirkung nicht allgemeiner Natur sein sollte. Eine derartige Erklärungsweise ist zu exklusiv, obwohl damit nicht verneint wird, daß sie in speziellen Fällen noch gute Dienste leisten kann.

5. Festgestellt wurde, daß die nur spärliche oder sogar fehlende Entwicklung bei vielen Verbindungen in einer zu großen Konzentration, abgesehen von einer eventuell schweren Angreifbarkeit, von einer schädlichen Wirkung der betreffenden Verbindung auf den Organismus verursacht wird, denn auch die Entwicklung auf anderen vollständigen Nährlösungen wurde durch viele der untersuchten Substanzen bei jener Konzentration gehemmt.

6. Später fand ich, daß die Unterschiede zwischen den in 1. genannten Gruppen von Verbindungen quantitativer Natur sind. Verbindungen, welche in großen Konzentrationen zur zweiten Gruppe gehören, wurden bei niedriger Konzentration in ausgezeichneter Weise von *Penicillium glaucum* assimiliert.

7. Hieraus geht hervor, daß Nahrung und Hemmung der Entwicklung von einem gemeinschaftlichen Gesichtspunkt aus betrachtet werden müssen.

8. In verschiedener Weise wurde diese Auffassung noch bestätigt. An erster Stelle durch die Tatsache, daß kleine Quantitäten von in hoher Konzentration stark hemmenden Substanzen bei *Penicillium glaucum* rascher Entwicklung veranlassen, als gleich große Konzentrationen weniger hemmende Substanzen.

9. Die Tatsache, daß sehr große Konzentrationen der untersuchten Verbindungen die Entwicklung hemmen, während sehr kleine Konzentrationen immer gekennzeichnet sein werden durch zu langsame Entwicklung, ist Ursache, daß bei einer dazwischen liegenden Konzentration im Anfang ein Maximum der Entwicklung beobachtet wird.

10. Dieses Schnelligkeitsmaximum liegt da, wo die Anfuhr des Nahrungstoffes in Zusammenhang mit der Verarbeitung am günstigsten ist.

11. Bei den Stoffen, die schon bei kleinen Konzentrationen einen schädlichen Einfluß auf die Entwicklung von *Penicillium glaucum* ausüben, wie Phenol, liegt dieses Maximum bei sehr niedrigen Konzentrationen. Bei Verbindungen, wie Protocatechusäure und Gallussäure, liegt es sehr hoch und bei Para- und Metaoxybenzoesäure bei dazwischenliegenden Konzentrationen.

12. Die Verbindungen, welche schädlich sind für den Organismus, werden nicht immer assimiliert. Ein typisches Beispiel dieser Art ist die 2,5-Dioxybenzoesäure.

13. Salizylsäurekonzentrationen wurden gefunden, welche die Entwicklung von *Penicillium glaucum* auf Kosten der Paraoxybenzoesäure hemmen. Es wurde dargetan, daß in jenen Fällen Salizylsäure aus der Lösung verschwindet.

14. Festgestellt wurde, daß unter den in 13. genannten Umständen, die verschwundene Salizylsäure für einen Teil in die bei jener Verdünnung unschädliche Gentisinsäure umgewandelt wird.

15. Analoge Umwandlungen wurden für andere in kleinen Konzentrationen schon schädliche Verbindungen wahrscheinlich gemacht.

16. Mittels der Overtonschen Theorie über den Zusammenhang zwischen der Schnelligkeit des Eindringens vieler Verbindungen und der Verteilung Öl : Wasser, konnte die physiologische Wirkung zahlreicher Verbindungen erklärt werden.

17. Dazu wurde die Verteilung der betreffenden Verbindungen zwischen Öl und Wasser bei 25° bestimmt.

18. Alle Verbindungen, welche eine große Teilungszahl besitzen, wie Salizylsäure (11,8) und Benzoesäure (12,6), dringen rasch ein, deshalb üben Lösungen dieser Verbindungen schon bei geringer Konzentration einen schädlichen Einfluß auf die Entwicklung aus. Mit einer großen Teilungszahl geht ein Schnelligkeitsmaximum bei niedriger Konzentration parallel.

19. Bei Stoffen, wie Para- und Metaoxybenzoesäure, ist zufolge der mehr zugunsten der wässerigen Phase liegenden Verteilung (Teilungszahl ca. 0,5) eine Überbürdung des Organismus bei niedrigen Konzentrationen ausgeschlossen, so daß nur sehr große Quantitäten dieser Verbindungen schädlich sind. Das Schnelligkeitsmaximum liegt hier bei ca. 100 mg pro 50 ccm. Bei Protocatechusäure und Gallussäure liegt es wegen der sehr kleinen Teilungszahl ($\pm 0,05$) sehr hoch (ca 600 mg pro 50 ccm).

20. Verbindungen, wie Paraoxybenzoesäure und Metaoxybenzoesäure veranlassen raschere Entwicklung als gleiche Konzentrationen der Gallussäure und Protocatechusäure. Auch diese Unterschiede sind in Zusammenhang mit der größeren Teilungszahl dem rascheren Eindringen der Para- und Metaoxybenzoesäure zuzuschreiben.

21. Die Anzahl und die Verschiedenheit der organischen Verbindungen, die in geeigneter Konzentration als Kohlenstoffquelle für *Penicillium glaucum* dienen können, ist außerordentlich groß. Nur einige hoch oxydierte Verbindungen, wie Kohlensäure und Harnstoff, geben keine Entwicklung.

22. Das Studium von Naphthalin und seinen Abkömmlingen und von den Fettsäuren hat dargetan, daß für ein starkes Narkotikum, außer einer großen Teilungszahl Lipoid : Wasser, eine einigermaßen beträchtliche Löslichkeit in Wasser Bedingung ist.

23. Die Essigsäure ist von allen Fettsäuren der beste Nährstoff. Bei den höheren Säuren dieser Reihe nimmt die Teilungszahl Öl : Wasser zu, und hiermit geht eine mehr ausgesprochene schädliche Wirkung auf den Organismus parallel.

24. Die Ameisensäure wird, trotz kleiner Teilungszahl, weniger gut assimiliert als die Essigsäure.

25. Von den zweibasischen Säuren (Oxalsäure und Homologe) ist die Bernsteinsäure eine ausgezeichnete Kohlenstoffquelle.

26. Bei der Malonsäure und Oxalsäure wird die schädliche Wirkung der Wasserstoffionen, zumal in den höheren Konzentrationen, schon merkbar. Bei der Oxalsäure kommt daneben noch eine schwierige Assimilierbarkeit.

27. Die schädliche Wirkung der Wasserstoffionen liegt für *Penicillium glaucum* bei ca. $1 \cdot 10^{-5}$ g Aeq. H^0 und ist bei den untersuchten Säuren unabhängig von der Natur des Anions. Bei *Aspergillus niger* ist diese kritische Konzentration viel größer, nl. ca. $4,5 \cdot 10^{-5}$. Die Wirkung der Wasserstoffionen kann, in Zusammenhang mit Untersuchungen von Michaelis und Takahashi, als eine Ausflockung der Kolloide der Protoplasma wand betrachtet werden.

28. Die Fettlöslichkeit tritt bei den zweibasischen Säuren (Oxalsäure usw.) in den Hintergrund, da sie fast nicht in Öl löslich sind. Nur bei den höheren Gliedern, wie Suberin-, Azelain- und Sebazinsäure ist die Teilungszahl schon ziemlich groß, da die Löslichkeit dieser Verbindungen in Wasser gering ist.

29. Antiweinsäure ist wegen ihrer kleinen Dissoziationskonstante in höheren Konzentrationen weniger schädlich für *Penicillium glaucum* als d- und l-Weinsäure.

30. Die antiseptische Wirkung der Borsäure wechselt mit der Natur des Mediums; sie ist gering in jenen Fällen, wo im Medium Verbindungen als Mannit, Lävulose, Sorbit u. a. vorhanden sind, die wie Leitfähigkeitsmessungen dargetan haben, imstande sind, die Borsäure, wenn auch nicht in der Form einer stabilen Verbindung, festzulegen.

31. Es ist wahrscheinlich, daß auch die antiseptische Wirkung der Borsäure und vieler anderen organischen Verbindungen auf selektive chemische Bindung zurückgeführt werden muß.

32. Alle ersten Glieder der homologen Reihen von aliphatischen Verbindungen wirken schädlicher, als man, wegen ihrer meist kleinen Teilungszahl, erwarten würde. Das wird nicht von einer positiven schädlichen Wirkung verursacht, da diese Verbindungen nicht die Entwicklung auf anderen Nährboden hemmen, sondern von einer weniger leichten Assimilierbarkeit, welche zur Äußerung kommt, sobald sie als einzige Kohlenstoffquelle benutzt werden.

33. Die Unterschiede in physiologischer Wirkung von 0,1-proz. Lösungen von o-, m- und p-Oxybenzoesäure können nicht durch die verschiedene Größe der Oberflächenspannung erklärt werden, wohl ist hier die Teilungszahl Öl : Wasser im Sinne der Overton'schen Theorie maßgebend.

Schließlich sage ich den Herren Prof. Dr. J. Böeseken und Prof. Dr. M. W. Beijerinck, die mich immer in wohlwollender Weise unterstützt haben, meinen verbindlichsten Dank.

Inhalt.

Original-Abhandlungen.

Grosbüsch, J., Über eine farblose, stark roten Farbstoff erzeugende *Torula*, p. 625.

Waterman, H. J., Über einige Faktoren, welche die Entwicklung von *Penicillium glaucum* beeinflussen. Beitrag zur Kenntnis der Antiseptica und Narkose, p. 639.

Abgeschlossen am 3. Dezember 1914.

Hofbuchdruckerei Rudolstadt.

Centralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 42. No. 25.

Ausgegeben am 21. Januar 1915.

Nachdruck verboten.

Über die Lipoide der Blastomyceten.

Mikrochemische und chemische Untersuchungen.

[Aus dem Institut für allgemeine Pathologie der Kgl. Universität Palermo.
Dir. Prof. A. T r a m b u s t i.]

Von Dr. A. Amato,
Dozenten der allgemeinen Pathologie.

In einer früheren Arbeit habe ich mich mit den Resultaten beschäftigt, die ich beim Studium der feinen Struktur der Bakterien erhalten hatte.

Im Anschluß daran habe ich meine Untersuchungen auf weitere Keime ausgedehnt und meine Aufmerksamkeit auf die feine Struktur der Blastomyceten gerichtet.

Indem ich mir vorbehalte, späterhin über die Resultate dieser Untersuchungen, die fortgesetzt werden sollen, zu berichten, möchte ich vorläufig nur meine Beobachtungen über die in diesen Keimen enthaltenen Fettstoffe bekannt geben. Während die Anwesenheit von histochemisch als Fett reagierenden Substanzen in den Schizomyceten durch die Beobachtungen von Dorset, Dietrich und Liebermeister, Preiß, Grimme, Daddi, Eisenberg u. a. nunmehr sicher nachgewiesen ist, sind doch in bezug auf die Blastomyceten meines Wissens die Untersuchungen recht spärlich und die Resultate widersprechend.

So fanden J a n s s e n s und L e b l a n c keine Fettstoffe in den in ihnen enthaltenen Granulationen.

Will dagegen beobachtete Granulationen, die sich mit Osmiumsäure schwarz, mit Alkannatinktur zinnoberrot färben, sich in Alkohol und Äther lösen und somit Fettkügelchen sein sollen.

Es finden sich kleine, runde; andere sind dicker und unregelmäßig und können das Aussehen von Kristalloiden annehmen.

Die Anwesenheit von Fett im Innern der Blastomyceten ist auch neuerdings von W a g e r und P e n i s t o n nachgewiesen worden, die im Cytoplasma zwei Kategorien von Körnchen fanden, 1. Fettkörnchen, 2. metachromatische Körperchen.

E i s e n b e r g stellte 1908 eine Untersuchung über die Fettkörnchen in den Fermenten in Aussicht, die jedoch, wenigstens soweit mir bekannt ist, noch nicht erschienen ist.

Nach diesen literarischen Hinweisen komme ich nun zur Beschreibung der Resultate, die von mir bei der histochemischen Untersuchung des *Saccharomyces ellipsoideus* auf Fette erhalten wurden.

* * *

Bei vitaler Färbung des *Saccharomyces ellipsoideus* mit Brillantkresylblau (nach der von mir in meiner Arbeit über die feine Struktur der Bakterien bereits eingeschlagenen Technik) kann man erkennen, daß

der periphere Teil desselben sich bläulich färbt, während der zentrale Teil eine leichte metachromatische Färbung annimmt, so daß diese Zone blaßblau, nach Rosa hinspielend, erscheint. In dem zentralen Teil tritt sodann ein dickes, intensiv violettgrau gefärbtes Körnchen hervor.

An diesem zentralen Körperchen habe ich verschiedene Veränderungen bemerken können, wie seine Teilungen in 2 und zuweilen auch in mehrere rundliche Körper, die sich an die Peripherie des Mikroorganismus begeben.

Auf diese verschiedenen Veränderungen des zentralen Körperchens, die wahrscheinlich mit verschiedenen Lebensabschnitten des Mikroorganismus im Zusammenhang stehen, will ich hier nicht weiter eingehen.

Bei Färbung desselben Mikroorganismus mit Sudan III und Herstellung von Präparaten nach C e s a r i s D e m e l konnte ich im Innern die Anwesenheit einer orange-gelb färbbaren Substanz erkennen, zuweilen als dicken Haufen in dem zentralen Teil, zuweilen in Form von mehr oder weniger kleinen Tröpfchen, die in sehr verschiedener Anzahl und auf die verschiedensten Weisen angeordnet angetroffen werden.

Bei Kombination endlich der beiden Färbungen mit Brillantkresylblau und Sudan III und Innehaltung der von C e s a r i s D e m e l angegebenen Technik konnte ich erkennen, daß die mit diesen beiden Substanzen färbbaren intrazellulären Partien vollkommen distinkt untereinander sind, so daß in demselben Präparat die getrennt mit den genannten Färbungen erhaltenen Befunde vereinigt sind. Es sind so das mit Brillantkresylblau veilchenblau färbbare zentrale Körperchen und die verschiedenen durch Sudan III gefärbten Tröpfchen zu gleicher Zeit wahrnehmbar.

Ja, wenn die durch Sudan III gefärbte Substanz sich als dicker, zentraler Haufen zeigt, kann man nicht selten das durch Brillantkresylblau gefärbte Körperchen gewissermaßen durch sie durchscheinen sehen.

Bei Herstellung von Ausstrichen auf Objektträgern und Fixierung derselben mit Formalindämpfen für wenige Minuten, anschließender Färbung mit einer gesättigten alkoholischen Lösung von Sudan III und Abschließung der Präparate mit A p a t h y schem Sirup (nach kurzem Waschen mit Alkohol zur Entfernung des Überschusses an Farbe) kann im Innern der Blastomyceten die Anwesenheit derselben mit Sudan III färbbaren Tröpfchen konstatiert werden, die wir bei der vitalen Färbung mit diesem nämlichen Farbstoff gesehen haben.

Aus diesen ersten Beobachtungen geht also aufs deutlichste hervor, daß im Innern des *Saccharomyces ellipsoideus* sicher Fettstoffe vorhanden sind, da, wenigstens bis heute, die Spezifität der Färbung mit Sudan III von niemand angezweifelt worden ist.

Da aber die Keime, an denen diese ersten Beobachtungen angestellt waren, aus Glykoseagarkulturen stammten, nahm ich zur Beseitigung jedes möglichen Einwurfs über die Herkunft dieses Fettes vollständig von den Kulturmedien auf Grund von Nährbouillon Abstand und kultivierte die Keime in 20-proz. Glykosewasser.

Aber auch im Innern der aus diesen Kulturen stammenden Blastomyceten konnte ich mit Sudan III dieselben Fetttröpfchen nachweisen, die sich fast in derselben Menge und ebenso angeordnet zeigten wie in den aus den Kulturen in Glykoseagar stammenden Blastomyceten.

Fast ohne Zweifel also stammt dieses Fett von einer Umwandlung, die die Keime in dem im Kulturmedium enthaltenen Traubenzucker bewirken können.

Diese Erscheinung steht im Zusammenhange mit unseren Kenntnissen von dem Auftreten und der Bildungsweise des Fettes in den Pflanzenzellen, durch die wir, wenn sie auch recht spärlich sind, doch zur Annahme berechtigt sind, daß das Pflanzenfett von einer Umwandlung der Kohlehydrate (Stärke, Traubenzucker, Zellulose) oder von einer Spaltung der Eiweißstoffe herrühren kann.

Die feineren Erscheinungen, die sich im Protoplasma abspielen und zur Ausarbeitung der Fettstoffe führen, entziehen sich noch vollkommen unserer Einsicht.

Ich erinnere in dieser Hinsicht an die Arbeiten von L a b o r d e und die von M a c é über E u r o t i o p s i s G a y o n i. Sie wiesen nach, daß diese Pflanze die Kohlehydrate, Eiweiße und Fette nicht direkt assimiliert, sondern sie zuerst mit Hilfe ihrer Diastasen spaltet, um sie in eine verhältnismäßig einfache Gruppierung, den A l k o h o l, überzuführen, bevor sie ihre Elemente assimiliert.

Unter Ausdehnung seiner Untersuchungen auf keimende Samen wies M a c é nach, daß die Kohlehydrat- und Ölreserven von der kleinen Pflanze nach analogen, zu Alkohol und Aldehyd führenden Umwandlungen verbraucht wurden.

Der Aldehyd ist zwar nicht isoliert worden, aber die Aldehydreaktion des Pflanzenprotoplasmas wurde von R e i n k e, L o e w e, B o k ö r n y klar nachgewiesen.

Sehen wir nun, wie sich das von mir im Innern des S a c c h a r o m y c e s e l l i p s o i d e u s beobachtete Fett gegen einige histochemische Reagentien verhält, und ob und wie weit es identifiziert werden kann.

* * *

Fixieren wir Präparate von S a c c h a r o m y c e s e l l i p s o i d e u s in einer 1-proz. Osmiumsäurelösung und schließen wir sie mit A p a t h y schem Sirup ab, so finden wir, daß nur einige spärliche Granulationen die Osmiumsäure derart reduziert haben, daß sie eine schwarze Farbe annehmen, während die meisten dagegen nur eine bräunliche Färbung angenommen haben.

Werden dagegen die Präparate vor der Behandlung mit Osmiumsäure in Fettlösungsmittel (Äther, Xylol usw.) eingelegt, so werden diese Granulationen nicht mehr angetroffen.

Aus diesen Beobachtungen geht hervor, daß es sich zweifellos um Fettstoffe handelt, und daß von ihnen nur einige die Osmiumsäure primär und vollständig reduzieren; die meisten dagegen reduzieren sie unvollständig, so daß sie nur eine Bisterfärbung annehmen.

Werden die Präparate nach Behandlung mit Osmiumsäure in Alkohol übergeführt, dann weisen auch die Granulationen, die primär eine braune Färbung angenommen hatten, eine schwarze Färbung auf.

Diese Erscheinung ist also auf die bereits von verschiedenen Autoren nachgewiesene reduzierende Wirkung des Alkohols zurückzuführen.

Nach S t a r k e soll die sekundäre Reduktion einiger Fette durch Einwirkung des Alkohols darauf beruhen, daß sie dadurch erweicht werden, und für diese Anschauungsweise spräche auch das Verhalten der festen Fette, die, zum Schmelzen gebracht, sofort die Osmiumsäure schwärzen.

In dieser Hinsicht macht jedoch L o m b a r d o mit Recht darauf aufmerksam, daß die höhere Temperatur die chemischen Reaktionen begünstigt und eher angenommen werden müsse, daß eine primär unvollständige Reduk-

tion dann durch den Alkohol, der an und für sich ein starkes Reduktionsmittel ist, zu Ende geführt wird.

Und daß diese Hypothese wahrscheinlicher ist als die vorausgehende, würde nach L o m b a r d o durch die Tatsache bewiesen, daß Palmitinsäure und Cholesterin, die durch Einwirkung der Osmiumsäure kaum gebräunt werden, beim Einlegen in Alkohol schwarz werden, ohne daß ihr Härtezustand eine Änderung erleidet, während andere feste Fette mit demselben Schmelzpunkt der Palmitinsäure wie Stearinsäure, Tristearin und Tripalmitin primär schwarz werden.

Werden die mit Osmiumsäure behandelten Präparate in Alkohol und dann in Xylol übergeführt, so bekommt man das vollständige Verschwinden der Granulationen, die primär eine bräunliche Färbung angenommen hatten, und es widerstehen nur die, die primär die Osmiumsäure reduziert hatten.

Zu bemerken ist, daß sich unter den Partien des Mikroorganismus, die primär die Osmiumsäure reduzieren und nach der Osmiumbehandlung den Lösungsmitteln widerstehen, das Septum befindet, das in den spärlichen Organismen, die solche in ihrem Innern aufweisen, die Sporen trennt. Im Innern der Sporen dagegen zeigt sich, wie wir weiter unten auch mit anderen Färbungen sehen werden, ein kleines Blöckchen Fettsubstanz, das die Osmiumsäure nicht primär reduziert, sondern vielmehr eine braune Färbung annimmt, nach Alkoholpassage schwarz wird und sich in Xylol löst.

Die in den Keimen, die nicht in der Sporenbildung begriffen sind, enthaltenen Granulationen zeigen, wie bereits erwähnt, größtenteils die Eigenschaften des im Innern der Sporen enthaltenen Fettes, während nur wenig primär die Osmiumsäure reduzieren und der Einwirkung der gewöhnlichen Lösungsmittel widerstehen.

Hervorzuheben ist auch, daß einige der dicken Granulationen die Osmiumsäure nur peripher reduzieren, während ihr zentraler Teil eine bräunliche Färbung annimmt.

Werden die Keime dagegen in Osmiummischungen, wie z. B. in F l e m m i n g scher Flüssigkeit, fixiert, so bekommt man die Reduktion der Osmiumsäure nur an ganz wenigen Granulationen, nämlich denjenigen, die an den in 1-proz. Osmiumsäure fixierten Präparaten die Osmiumsäure vollständig reduzieren und schwarz gefärbt erscheinen, während die anderen Granulationen, die nur eine bräunliche Farbe annahmen, an den so behandelten Präparaten nicht wahrnehmbar sind.

Nicht selten werden Tröpfchen angetroffen, die nur den Rand schwarz gefärbt zeigen und offenbar den oben beschriebenen entsprechen, die nur peripher Reduktion der Osmiumsäure aufwiesen, während der zentrale Teil braun gefärbt erschien.

Auch an den mit F l e m m i n g scher Flüssigkeit behandelten Präparaten habe ich beobachten können, daß das die Sporen trennende Septum in den sporenhaltigen Organismen die Osmiumsäure reduzierte, obwohl die Reduktion nicht so evident ist wie an den mit 1-proz. Osmiumsäurelösung behandelten Präparaten.

Bekanntlich haben B e r n a r d und B i g a r t die Fette nach ihrem Verhalten gegen Osmiumsäure in labile und stabile Fette eingeteilt.

Die stabilen Fette reduzieren die Osmiumsäure und sind in diesem Zustand sehr wenig in den gewöhnlichen Fettlösungsmitteln löslich.

Die labilen Fette dagegen färben sich mit Osmiumsäure graubraun, welche Farbe nach Alkoholpassage in schwarz übergeht, und lösen sich leicht in Xylol.

Nach dieser Unterscheidung wären die von uns im Innern des *Saccharomyces ellipsoideus* angetroffenen Fette zum größten Teil labile und nur zum kleinen Teil stabile Fette.

Bekanntlich können nach *Altman*, *Starke*, *Mulon* nur die Oleinsäure und die Oleine primär die Osmiumsäure reduzieren und wären stabile Fette während nach *Altman*, *Starke*, *Handwerk*, *Mulon* die Eigenschaften, sich mit Osmiumsäure braun zu färben (das nach Alkoholpassage schwarz wird) und sich nach Behandlung mit Osmiumsäure in Xylol zu lösen, den Fetten zukämen, die vorzugsweise Stearinsäure oder Palmitinsäure enthalten; in diese Kategorie gehören das Lezithin und die Myelinstoffe, die somit labile Fette im Sinne von *Bernard* und *Bigart* wären.

Ich muß hier auch noch bemerken, daß nach *Unna* und *Starke* die Reduktion der Osmiumsäure durch Fettstoffe auf ihrem physikalischen Zustand beruhen soll, derart, daß die Osmiumsäure durch Fette reduziert würde, die einen niedrigen Schmelzpunkt haben.

Lombardo untersuchte 1906 das Verhalten der meisten im Menschen angetroffenen Fettkörper gegen Osmiumsäure (Dämpfe, 2-proz. Lösung, *Flemmingsche* Flüssigkeit), Sudan III, Scharlach R, Alkannatinktur und Bleiazetat nach dem Verfahren von *Benda*.

Aus seinen Untersuchungen geht hervor, daß von den verschiedenen von ihm studierten Fetten mit Sudan III sich nur die Oleinsäure, das Triolein, die Palmitinsäure, die Stearinsäure, das Tristearin, das Tripalmitin, die Caprylsäure, das Lanolin und das Lezithin färbten.

Von all diesen Substanzen jedoch verhalten sich etwas verschieden gegen Osmiumsäure nur Palmitinsäure, Stearinsäure und Lecithin, während alle anderen in Gegenwart dieser Säure, sei es in Form von Dämpfen, einer 2-proz. Lösung oder der *Flemmingschen* Flüssigkeit, rasch schwarz werden. Die Palmitinsäure gibt in der Tat eine leichte Bräunung mit den Dämpfen und eine Graufärbung mit der 2-proz. Osmiumsäurelösung oder der *Flemmingschen* Flüssigkeit; die Stearinsäure gibt eine grauschwarze Färbung mit den Osmiumsäuredämpfen und der 2-proz. Lösung, während sie nach einer 6—10 Minuten langen Einwirkung der *Flemmingschen* Flüssigkeit schwarz wird; Lezithin endlich gibt eine schwarze Färbung erst nach 5 Minuten langer Einwirkung der Osmiumsäuredämpfe oder einer 2-proz. Lösung, während es bei Einwirkung der *Flemmingschen* Flüssigkeit sehr langsam schwarz wird.

Hält man diese Befunde *Lombardos* und die oben von mir beschriebenen Befunde zusammen, so ergibt sich, daß die in *Saccharomyces ellipsoideus* enthaltenen Fette größtenteils nur eine bräunliche Färbung mit der 1-proz. Osmiumsäurelösung geben und bei 5 bis 10 Minuten langem Fixieren in *Flemmingscher* Flüssigkeit nicht erkannt werden, schon aus diesen ersten Beobachtungen die Vermutung, daß die größte Quantität des in diesem Blastomyceten enthaltenen Fettes durch Lezithin gebildet sein dürfte.

Untersuchen wir nun das Verhalten dieses im *Saccharomyces ellipsoideus* enthaltenen Fettes nach der Methode von *Ciaccio*, die nach dem Autor hauptsächlich Lezithin und Protagon nachweisen soll.

Zu diesem Zwecke habe ich die beiden, von *Ciaccio* für das Studium der Lipoider der Leukocyten vorgeschlagenen Methoden auf die Keime angewandt.

Bei Anwendung der ersten Methode, d. h. Fixieren der Ausstriche auf Deckgläschen in Formalindämpfen für einige Minuten, 12-stündiges Einlegen

in C i a c c i o s c h e Flüssigkeit, 24-stündiges Chromisieren (3-proz. Kaliumbichromatlösung), Waschen in fließendem Wasser, Passage in Alkohol 70°, Färbung mit Sudan III und Hämatoxylin, Einschließen in Sirup A p a t h y, werden Tröpfchen von verschiedener Größe und verschiedener Verteilung im Leibe des Mikroorganismus nachgewiesen, die sich mit Sudan III färben; es werden somit fast die gleichen Befunde erhalten, die ich bereits bei der vitalen Färbung mit Sudan III erzielt hatte.

Werden die Deckgläschen nach der Chromisierung und vor der Färbung in die gewöhnlichen Fettlösungsmittel eingelegt, so ist der Unterschied in dem Quantum der färbbaren Fette kein sehr merklicher.

Dies stimmt sehr gut mit den bereits mit Osmiumsäure erhaltenen Befunden überein.

In der Tat sollen sich nach der C i a c c i o s c h e n Technik bei Befolgung des ersten Verfahrens sämtliche in den Mikroorganismen enthaltenen Fette färben; werden dagegen die Gläschen nach der Chromisierung in die Fettlösungsmittel gebracht, so gehen die gewöhnlichen Fette, d. h. diejenigen, die in den mit Osmiumsäure behandelten Präparaten primäre Reduktion gaben, in Lösung. Da wir nun gesehen haben, daß die primär die Osmiumsäure reduzierenden Granulationen sehr spärlich waren, so führt das Verschwinden derselben zu keinen bemerkenswerten Unterschieden in den nach der eben angegebenen Technik behandelten Präparaten.

Bei Benutzung der zweiten von C i a c c i o vorgeschlagenen Methode nämlich

a) Fixieren in folgender Mischung: 1 proz. Osmiumsäure 10 ccm, 5 proz. Kaliumbichromat 15 ccm, Ameisensäure 1 Tropfen;

b) Waschen in fließendem Wasser für 2 Stunden;

c) Alkohol 70°, Sudan III, Hämatoxylin; Einschließen in Sirup A p a t h y werden die beiden obengenannten Fettarten differenziert. Es finden sich in der Tat Granulationen in spärlicher Anzahl, die durch Reduktion der Osmiumsäure eine schwarze Farbe angenommen haben, während die Mehrzahl eine rotbraune Farbe angenommen haben, beruhend auf der Überlagerung der bräunlichen Farbe der unvollständigen Osmiumsäurereduktion und der mit Sudan III angenommenen Färbung.

Ich habe bereits in den mit Osmiumsäure behandelten Präparaten verzeichnet, daß einige Tröpfchen sie nur an ihrer Peripherie reduzieren, während der zentrale Teil derselben sie unvollständig reduziert, so daß sie sich als bräunlich gefärbte und von einem schwarzen Ring konturierte Tropfen zeigen.

An den nach dem 2. Verfahren von C i a c c i o behandelten Präparaten zeigen sich nun diese Tropfen im zentralen Teil rotbraun gefärbt, während sie an der Peripherie eine intensiv schwarze Färbung annehmen.

Da aus den Untersuchungen von C i a c c i o hervorgehen soll, daß das Fett, das nach Chromisierung den gewöhnlichen Lösungsmitteln widersteht und die Eigenschaft, sich mit den spezifischen Stoffen (Sudan III, Scharlach R) zu färben, beibehält, als ein Lipoid, L e c i t h i n, betrachtet werden muß, so bekräftigen diese Untersuchungen die Vermutungen, zu denen uns bereits die mit Osmiumsäure erhaltenen Befunde geführt hatten, nämlich daß der größte Teil der im S a c c h a r o m y c e s e l l i p s o i d e u s nachweisbaren Fettstoffe durch das Lecithin dargestellt wird.

Darauf hinweisen muß ich auch, daß dieser Fettstoff, der die Osmiumsäure unvollständig reduziert und nach Chromisierung den Lösungsmitteln

widersteht, in den in der Vermehrung begriffenen Formen beträchtlich zunimmt, und ein Blöckchen von ihm auch im Innern der Sporen angetroffen wird.

Bekanntlich haben einige Autoren gesucht, die Fettstoffe mit Hilfe einiger Farbstoffe wie z. B. Nilblausulfat zu differenzieren.

Ich habe mich daher auch dieser Substanz bedienen wollen, um eine Differenzierung der im Innern des *Saccharomyces ellipsoideus* enthaltenen Fette zu versuchen.

An mit Nilblausulfat hergestellten Präparaten konnte ich feststellen, daß der größte Teil der Tröpfchen eine Rosafärbung annimmt, d. h. die Färbung der Ester, während nur wenige und auch kleinere eine blaue Farbe, d. h. die Färbung der Fettsäuren annehmen.

Weiter konnte ich beobachten, daß das die Sporen der in Sporulation begriffenen Keime trennende Septum eine rote Farbe (Färbung der neutralen Fette) annimmt.

Auch mit dieser Methode habe ich im Innern der Sporen kleine Blöckchen nachweisen können, die dabei eine Rosafärbung annehmen und somit, wie bereits aus den Beobachtungen der mit Osmiumsäure und nach dem Ciaccio'schen Verfahren behandelten Präparate erkannt wurde, durch dieselbe Substanz gebildet werden, die das vorwiegende Fett im fraglichen Keim darstellt.

Aus diesen Beobachtungen würde sich also noch weiter ergeben, daß die im *Saccharomyces ellipsoideus* enthaltenen Fette zum größten Teil aus Estern und nur zum kleinen Teil aus Fettsäuren bestehen.

Fassen wir nun das oben Gesagte zusammen, so führten uns bereits die mit Osmiumsäure erhaltenen Befunde zur Vermutung, daß die vital mit Sudan III im *Saccharomyces ellipsoideus* färbbaren Substanzen zum größten Teil durch Lezithin dargestellt würden; und diese Vermutung wurde weiterhin durch die mit den Verfahren von Ciaccio erhaltenen Befunde bekräftigt.

Die Befunde endlich mit Nilblausulfat klären uns noch besser über die von uns bereits mit den ersten Methoden beschriebenen Fettarten auf.

Das Nilblausulfat zeigte uns in der Tat die Anwesenheit kleiner Mengen Fettsäuren, während es uns andererseits die Bestätigung gab, daß das hauptsächlich in dem von uns untersuchten Blastomyceten enthaltene Fett Lezithin sein kann, das bekanntlich ein Ester ist.

Die mikrochemischen Befunde zeigen uns also, daß im Innern der Blastomyceten Fettsäuren und Lecithin vorkommen.

Jedoch wollte ich bei diesen Resultaten nicht stehen bleiben, und habe gesucht, die Bestätigung dieser Befunde durch chemische Untersuchungen zu erhalten.

Was jedoch die Fettsäuren anbelangt, so habe ich keine chemischen Untersuchungen anstellen können, da in Anbetracht ihrer Spärlichkeit enorme Quantitäten von Kulturen notwendig gewesen wären.

Somit beschränkte ich die Untersuchungen auf die Kontrolle, ob in den Blastomyceten Lezithin vorkam.

Zu diesem Zweck stellte ich Kulturen in Kolben mit $\frac{1}{2}$ Liter Glykosewasser an.

Nach einigen Tagen, als sich die Kulturen gut entwickelt hatten, dekantierete ich die Flüssigkeit ab, und erhielt durch Zentrifugieren ein Sediment von Keimen, das ich durch wiederholtes Auswaschen mit destilliertem Wasser

und Zentrifugieren so weit wie möglich von dem Traubenzucker zu befreien suchte.

Dann verfuhr ich auf zwei verschiedene Weisen:

1. Nach Trocknen des Keimerückstandes auf dem Wasserbad behandelte ich ihn mit kochendem Alkohol.

Es wurde filtriert, der Alkohol auf dem Wasserbad verdampft und der Rückstand wiederholt mit Äther behandelt. Der trockene Ätherrückstand wurde wie weiter unten angegeben weiterbehandelt.

2. Die mit Alkohol behandelten Keime wurden mit Glaspulver vermischt und nach Verdampfen des Alkohols auf dem Wasserbad wurde das die Keime enthaltende Glaspulver im Soxhlet'schen Apparat zur Extraktion der Fette mit Äther behandelt.

Der Äther, der zur Extraktion gedient hatte, wurde dann verdunsten lassen.

Sowohl der ätherische Rückstand von dem 1. Verfahren wie der Ätherrückstand von der Extraktion mit dem Soxhlet'schen Apparat wurde von mir für die Untersuchung auf Phosphor verwendet, ein Element, auf das bekanntlich die Bestimmung der Lezithine gestützt werden kann.

Die Rückstände wurden also nach Verbrennung mit Natriumnitrat- und -karbonat in Wasser aufgelöst und filtriert.

Durch Ansäuern mit Salpetersäure und Zusatz eines Überschusses einer salpetersauren Lösung von Ammoniummolybdat wurde in beiden Fällen eine Trübung und beim Stehenlassen ein gelber, in Gegenwart von Ammoniak löslicher Niederschlag erhalten.

Wird diese ammoniakalische Lösung mit Salpetersäure versetzt, so bildet sich der Niederschlag wieder.

Andererseits führt die ammoniakalische Lösung auf Zusatz von Magnesiumsulfat langsam zur Bildung eines kristallinen und zum Teil amorphen Niederschlages, der sich bei der mikroskopischen Untersuchung durch Kristalle von Ammoniummagnesiumphosphat gebildet zeigte.

Vor diesen Versuchen waren die notwendigen Untersuchungen zum Ausschluß eines event. Vorhandenseins des Phosphors in den Reagentien und im Glas ausgeführt worden.

Da so die Anwesenheit von Phosphor in dem aus dem *Saccharomyces ellipsoideus* extrahierten Fett bewiesen ist, erscheint es außer Zweifel, daß es sich um Lezithin handeln muß.

Nun habe ich in den oben mitgeteilten histochemischen Beobachtungen verzeichnen können, daß einige Fettröpfchen an der Peripherie primäre Reduktion der Osmiumsäure aufwiesen, während der zentrale Teil sich braun färbte. In diesem Fall könnte man annehmen, daß die Osmiumsäure primär an der Peripherie des Tropfens durch die Anwesenheit von Oleinsäure reduziert würde.

Unter den Spaltungsprodukten der Lezithine finden wir zwar Oleinsäure wie Palmitinsäure und Phosphorglyzerinsäure; eine Hypothese aber über die Anwesenheit jener Säure wird auf einem an Schwierigkeiten so reichen Gebiet wie diesem der Chemie der Fette erst nach weiteren Untersuchungen aufgestellt werden können.

Hinzufügen muß ich überdies, daß, nachdem Drechsel und dann Baldi aus tierischen Geweben neben Lezithin Jekorin extrahierten, das ebenfalls eine phosphorhaltige, in Alkohol und Äther lösliche Substanz ist und

somit organische Phosphorsäure geben kann, die auf den Nachweis des Phosphors gegründete Lezithinbestimmung für verfehlt gehalten wurde.

Nun glaube ich aber nicht, daß es hier am Platze ist, auf diesen möglichen Einwurf einzugehen: 1. weil meines Wissens das Jekorin bis heute nur aus tierischen Geweben isoliert worden ist, während niemand Jekorin in den pflanzlichen Zellen angetroffen hat.

2. Weil das Jekorin in Gesellschaft des Lezithins eine Fehlerquelle bei quantitativen Untersuchungen abgeben könnte, während in meinem Falle, auch wenn ein Teil des nachgewiesenen Phosphors auf der Anwesenheit von Jekorin beruhte, dies doch nicht hindert, daß der größte Teil desselben auf das Lezithin zurückzuführen ist.

3. Endlich weil nachgewiesen worden ist, daß Jekorin nichts weiter ist, als durch Glykose und Dextrin verunreinigtes Lezithin.

* * *

Schließlich muß ich noch auf einen Befund hinweisen, den ich beim *Saccharomyces ellipsoideus* erhielt, für den ich aber vorläufig auf irgendwelche Deutung verzichten möchte.

Bekanntlich haben Plato und Guth im *Penicillium brevicaulis* Granula gefunden, die befähigt sind, das durch ein Alkali reduzierte Neutralrot wieder zu oxydieren.

Ich habe deshalb untersucht, ob auch im *Saccharomyces ellipsoideus* etwas ähnliches angetroffen werden kann.

Zu diesem Zweck behandelte ich eine filtrierte 1-proz. Neutralrotlösung mit einigen Tropfen einer starken Lösung von Ätzkali und fällte so den Farbstoff aus.

Nach Auswaschen des Präzipitates wurde dieses in absolutem Alkohol gelöst, wodurch eine dunkelbernsteinfarbige Lösung erhalten wurde.

Bei Herstellung von Präparaten nach Cesaris Demel konnte ich nun im Innern der Blastomyceten Granula verzeichnen, die befähigt waren, das Neutralrot unter Annahme einer ziegelroten Färbung wieder zu oxydieren.

Diese Granula zeigen sich verschiedenartig im Leibe des Blastomyceten zerstreut und recht verschieden verteilt; was mich aber überraschte, waren die Beziehungen, die sie häufig mit den glänzend, farblos bleibenden Fettröpfchen eingingen.

Nicht selten traf ich in der Tat die Anwesenheit dieser Granula um die Fettröpfchen, zuweilen in geringer Anzahl, zuweilen derart, daß sie sie vollständig umgaben.

Was stellen diese Granula dar? Welches ist ihre Aufgabe und warum gehen sie so enge Beziehungen zu den Fettröpfchen ein?

Vorläufig halte ich mich nicht für berechtigt, die geringste Vermutung aufzustellen; ich beschränke mich darauf, auf den Befund hingewiesen zu haben.

* * *

Aus den vorliegenden Untersuchungen ergibt sich als höchst wahrscheinlich, daß im Innern der Blastomyceten die Anwesenheit von Fettsäuren und vorwiegend von Lezithin angetroffen wird; daß dieses, wie bereits Lilienfeld und Monti bei den tierischen Zellen beobachtet hatten, in den in der Reproduktion begriffenen Individuen zunimmt

und daß eine gewisse Menge desselben in die Spore eingeschlossen wird.

All diese Erscheinungen bestätigen die Bedeutung des Lezithins in den biologischen Prozessen.

Meine Beobachtungen zeigen weiter noch die Anwesenheit von Granulationen im Innern der Blastomyceten, die befähigt sind, das durch ein Alkali reduzierte Neutralrot wieder zu oxydieren, die Beziehungen zu den Fettröpfchen eingehen, über deren Natur und Aufgabe ich mich jedoch vorläufig noch nicht aussprechen kann.

Nachdruck verboten.

Versuche über die Keimungsbedingungen der Teleutosporen einiger Uredineen. III.

Von Dr. P. Dietel.

Weitere Versuche mit *Puccinia Malvacearum* Mont.

Obwohl die Keimungsbedingungen der Sporen von *Puccinia Malvacearum* bereits mehrfach Gegenstand eingehender Untersuchungen gewesen sind bedürfen gleichwohl einige Punkte noch der genaueren Ermittlung.

Wer Versuche mit dieser Rostart angestellt hat wird die Erfahrung gemacht haben daß die Keimung der Sporen in trockener Luft unterbleibt. L. Hecke¹⁾ schreibt in bezug hierauf: „Außer der Zufuhr von Wasser ist aber für die Keimung überhaupt eine gewisse Luftfeuchtigkeit notwendig. Auch auf der lebenden, turgeszenten Pflanze findet die Keimung nur in feuchter Luft statt. In dauernd trockener Luft, z. B. bei Kultur im Zimmer, tritt auch bei reichlicher Wasserzufuhr durch Gießen niemals Keimung ein, vielmehr bleiben die dann dunkelbraun werdenden Pusteln ungekeimt, bis die Blätter selbst absterben und vertrocknen.“

Es erschien nun wünschenswert, denjenigen Grad von Luftfeuchtigkeit näher zu ermitteln, der für den Eintritt der Keimung erforderlich ist. Zu diesem Zwecke wurden folgende Versuche angestellt.

1. In einem durch Oberlicht gut erhellten Kellerraum, dessen Temperatur 17° C und in welchem die Luftfeuchtigkeit 96 Proz. betrug, wurde eine junge, eingetopfte Malve (*Althaea rosea*) aufgestellt, deren Blätter einige gut ausgereifte *Puccinia*-Pusteln trugen. Nach 30 Stunden war noch keine Keimung erfolgt. Die Versuchspflanze wurde alsdann mit einer Glasglocke überdeckt, die innen teilweise mit angefeuchtetem Löschpapier ausgekleidet war und mit ihrem Rande in feuchten Sand gestellt wurde. Das Hygrometer zeigte 100 Proz. an. Nach zwei Stunden war in allen Sporenlagern Keimung eingetreten.

2. Unter denselben Bedingungen wie im vorigen Versuch wurde eine junge Malve mit mehreren Sporenlagern aufgestellt und sofort mit der Glasglocke bedeckt. Nach zwei Stunden wurde der Eintritt der Keimung festgestellt.

¹⁾ Hecke, L., Versuche über die Biologie des Malvenrostes (*Puccinia Malvacearum* Mont.). (Mitt. d. landwirtsch. Lehrkanzeln der k. k. Hochschule f. Bodenkultur in Wien. Bd. 2. 1914. p. 457.)

3. Die Versuchspflanze, die nur ein kräftiges Sporenlager trug, wurde um 3½ Uhr nachmittags in demselben Versuchsraum bei 96 Proz. Luftfeuchtigkeit aufgestellt. Um 8 Uhr abends war noch keine Keimung erfolgt. Während der Nacht wurde ein Kellerfenster offen gelassen und so eine Abkühlung der Kellerluft um 1½ Grad herbeigeführt. Hauptsächlich hierdurch, vielleicht auch teilweise durch das Eindringen nebelfeuchter Luft war bis zum Morgen im Keller die Feuchtigkeit auf 100 Proz. gestiegen und nunmehr war auch eine reichliche Sporenkeimung eingetreten.

4. Eine junge Malve mit mehreren Sporenlagern wurde unbedeckt in den Keller gestellt. Feuchtigkeitsgrad zu Beginn nachmittags 4 Uhr 96 Prozent, früh 7 Uhr 98 Prozent, vormittags 11 Uhr 96 Proz. Keine Keimung. Diese trat erst ein, nachdem die Versuchspflanze mit einer Glasglocke bedeckt worden war.

5. Bei 96 Proz. Luftfeuchtigkeit und 15,5 ° C war bei einem weiteren Versuch in den zu dichten Gruppen vereinigten Sporenlagern nach 3½ Stunden eine schwache, aber fast allgemeine Keimung eingetreten. Nach insgesamt 20 Stunden war am folgenden Morgen bei 98 Proz. Feuchtigkeit kein Fortschritt bemerkbar. Die mikroskopische Untersuchung ergab, daß die meisten gekeimten Sporen nur Keimschläuche von etwa 15 µ Länge gebildet hatten. Nur vereinzelt wurden etwas längere Schläuche gefunden, von denen einige eine Endkonidie abgeschnürt hatten. Es war also offenbar die Keimung nach kurzer Zeit zum Stillstand gekommen. In einigen isoliert stehenden Sporenlagern auf demselben Blatte verriet erst nach 24 Stunden ein schwacher, weißlicher Anflug den Beginn der Keimung die auch hier keine wesentlichen Fortschritte machte.

6. Auch in diesem Versuche wurde die Pflanze zunächst in Luft von 96 Proz. Feuchtigkeit gebracht. Temperatur 15° C. Nach 7 Stunden war bei gleichbleibender Feuchtigkeit noch keine Keimung eingetreten. Am folgenden Morgen nach 16 Stunden, zeigte das Hygrometer bei 14° C 98 Proz. an und es war inzwischen in vielen Lagern Keimung eingetreten, sie war aber nicht weit vorgeschritten. Nach weiteren 5 Stunden, während welcher die Feuchtigkeit wieder auf 96 Proz. herabgegangen war, wurden bei der mikroskopischen Untersuchung meist kurze Keimschläuche, daneben auch weniger zahlreiche etwas längere, teilweise mit Endkonidien, endlich auch einige ganz vereinzelt Sporidien gefunden. Nach insgesamt 29 Stunden waren die Endkonidien etwas zahlreicher, Sporidien wurden nicht wieder beobachtet, und genau so war das Keimungsbild nach weiteren 14 Stunden.

Der Unterschied, den die Versuche 5 und 6 hinsichtlich des Beginns der Keimung aufweisen, ist vielleicht darauf zurückzuführen, daß die Sporenlager in No. 5 stärker ausgereift, dunkelbraun, in No. 6 dagegen etwas jünger von hellbrauner Färbung waren.

Aus diesen Versuchen ist also ersichtlich, daß die auf der lebenden Pflanze befindlichen Sporen des Malvenrostes nur in einer mit Wasserdampf gesättigten Atmosphäre in normaler Weise zu keimen vermögen. Das gleiche wird wohl für die meisten, wenn nicht für alle Leptoformen gelten. Die für die Sporenkeimung günstigen Bedingungen sind also erfüllt einerseits bei andauerndem Regenwetter, andererseits in Nächten mit stärkerer Abkühlung der Luft, so daß also auch bei dauernd sonnigem Wetter, besonders im Spätsommer und Herbst, eine starke Ausbreitung des Malvenrostes erfolgen kann.

Es ist nun weiter festzustellen, in welcher Weise die Luftfeuchtigkeit bei der Sporenkeimung in Frage kommt. Es sind hier zwei Fälle denkbar: Entweder nehmen die Sporen Wasser direkt aus der Luft auf, oder die Nährpflanze wird durch Sättigung der Luft mit Wasserdampf erst in den für die Sporenkeimung erforderlichen Zustand versetzt. Die erste von diesen beiden Möglichkeiten ist von vornherein wenig wahrscheinlich, denn die äußerste Schicht der Sporenmembran ist für Wasser offenbar nicht durchdringbar. Nach einer Angabe von W. B. Grove (The British Rust Fungi p. 11) sind die Teleutosporen mit einer chitinierten Cuticula überzogen, so daß also Wasser nur durch die Ansatzstelle des Stieles in die Sporen gelangen kann. Es ist außerdem zu beachten, daß in frischen Sporenlagern, die von den Blättern abgeschnitten und mit der Basis auf Wasser gelegt werden, auch dann Keimung eintritt, wenn der Versuch in trockener Zimmerluft angestellt wird, die Oberfläche der Sporenlager sich also nicht in dampfgesättigter Luft befindet. — Wir müssen also daran festhalten, daß bei der Keimung der Sporen das dazu erforderliche Wasser nur durch den Stiel hindurch in die Sporen gelangt, also bei der Keimung auf der lebenden Pflanze den Geweben der letzteren entnommen wird. Dazu ist aber nötig, daß die Pflanze sich in dampfgesättigter Luft befindet, ihre Gewebe also den vollen Turgor haben. Die oben angeführten und noch mehrfach wiederholten Versuche lassen erkennen, daß schon das geringste Herabgehen unter den Sättigungspunkt genügt, um eine normale Keimung unmöglich zu machen.

Zur Prüfung dieses Ergebnisses wurde auch noch folgender Versuch angestellt: Ein mit Sporenlagern besetztes Malvenblatt wurde in schwach welkem Zustande mit dem Stiele durch einen in der Mitte durchbohrten, breiten Kork gesteckt, so daß das Stielende nach oben hervorragte, und sodann mit dem Kork eine bis zu geringer Höhe mit Wasser gefüllte Glasbüchse verschlossen. Der geringe Zwischenraum zwischen Blattstiel und Kork wurde mit angefeuchteter Watte ausgefüllt, so daß sich das Blatt also in einem dampfgesättigten Raum befand. Nach einiger Zeit war das Blatt wieder turgeszent geworden und verblieb anscheinend auch in diesem Zustand. Fünf Stunden nach Beginn des Versuches war an den meisten Sporenlagern eine schwache Keimung bemerkbar, die aber auch nach weiteren zwei Tagen keine Fortschritte gemacht hatte. Bei einer Wiederholung des Versuches wurden in den in der Büchse befindlichen Teil des Blattstieles mehrere Einschnitte gemacht. Hier wurde eine Zunahme des Turgors erst erreicht, als die Glasbüchse nach sechs Stunden aus warmer Zimmerluft (ca. 22°) in den Keller (15°) gebracht wurde. Erst jetzt stellte sich der Beginn einer schwachen Keimung ein. Der Verlauf des Versuches war hier im übrigen der gleiche, nur daß das Blatt später wieder schlaff wurde. Wir dürfen daraus wohl schließen, daß in beiden Fällen der volle Turgor nur für kurze Zeit erreicht wurde und mit dem Nachlassen desselben der Keimungsvorgang zum Stillstand kam. Dieser Eindruck wurde auch durch die mikroskopische Untersuchung der Sporen bestätigt. Die meisten Keimschläuche hatten trotz der langen Dauer des Versuches nicht die normale Länge der Promycelien erreicht und auch noch keine Scheidewände gebildet. Viel spärlicher wurden septierte Schläuche gefunden und nur ziemlich vereinzelt war an ihnen die Bildung einzelner Endkonidien eingetreten. Sporidienbildung wurde nicht gefunden.

Als Ursache des Ausbleibens der Sporidienbildung und der Abgliederung von Endkonidien habe ich auf Grund früherer Versuche (Centralbl. f. Bakt.

Abt. II Bd. 35. p. 282—285) den mangelhaften Turgor in den Geweben der Nährpflanze bezeichnet und dies später (Mycol. Centralbl. Bd. 1. p. 357) dahin ergänzt, daß der infolgedessen auch im Keimschlauch selbst herrschende Turgordruck für den Verlauf des Keimvorganges maßgebend ist, daß also Konidienbildung durch zu geringen Turgor in den Zellen des Promycels veranlaßt wird. Klebahn (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. 24. p. 31) sieht dagegen die Ursache dieser Erscheinung in einer gesteigerten Wasseraufnahme und vermag diese Ansicht mit den von mir gemachten Beobachtungen nur durch die Annahme in Einklang zu bringen, daß bei diesen Versuchen die Sporenlager vielleicht von Kondensationswasser bedeckt gewesen seien. Demgegenüber muß ich feststellen, daß in 50—60 Versuchen die konidienbildenden Keimschläuche über die unbenetzte Oberfläche der Sporenlager frei in die Luft ragten. Es wurde nun aber auch noch der zweite der eben beschriebenen Versuche zu einem Kontrollversuch benutzt, indem in die Glasbüchse mit dem herabhängenden Blatt vor der Versetzung der Büchse in den Keller ein frisches mit der *Puccinia* behaftetes Malvenblatt so gestellt wurde, daß es mit dem Stiel in das in der Büchse befindliche Wasser eintauchte. Nach Verlauf einiger Stunden wurde an diesem von Anfang an turgeszent gebliebenen Blatte üppige Keimung mit sporidienbildenden Promycelien nachgewiesen. Es hatte also auch hier nur das Blatt mit dem geringeren Turgor unter sonst völlig gleichen Umständen Konidienbildung aufzuweisen. — Von dem Eintreten von Konidienbildung an submersen Keimschläuchen wird unten die Rede sein.

Es wird nicht überflüssig sein, einmal den Keimungsvorgang in seinen Einzelheiten zu verfolgen, zumal da die Angaben darüber in der Literatur nur dürftige sind. Über die Bildung der Sporen bei den Basidiomyceten macht De Barry (Vergleich. Morph. u. Biol. der Pilze. 1. Aufl. p. 68) folgende Angaben, die man wohl auch auf die Sporidien (Basidiosporen) der Uredineen wird anwenden dürfen: „Hat die Basidie ihre volle Größe erreicht, so treten an ihrem abgerundeten Scheitel die Sterigmen hervor, als schmal pfriemenförmige Aussprossungen. Wenn dieselben eine bestimmte Länge erreicht haben, so schwillt ihr bis dahin fein gespitztes Ende zu einer Blase an, welche allmählich die Gestalt, Größe und Struktur der fertigen Spore erhält. In dem Maß als dieses fortschreitet, wandert das Protoplasma der Basidie in die Anschwellungen; zuletzt, nach fast vollständiger Ausbildung der Sporen werden diese durch je eine Querwand abgegrenzt, die Basidie hat ihr Protoplasma größtenteils abgegeben, behält jedoch einen dünnen Wandbelag und bleibt turgeszent.“ Man hat diese Darstellung wohl so aufzufassen, daß die Membran an der Spitze eines jeden Sterigmus zu einer Blase auswächst, in welche hinein das Protoplasma der Basidie sich ergießt.

Um unsere Ansicht über den Verlauf des Keimungsvorganges darzulegen, ist es nötig, zunächst kurz den Bau der Sporenmembran von *Puccinia Malvacearum* zu schildern. Dieselbe läßt deutlich drei Schichten erkennen. Zu äußerst zieht sich cuticulaartig eine überall gleichmäßig dünne Schicht über die ganze Spore hinweg und setzt sich nach unten in die Stielmembran fort. Sie ist nach De Barry (l. c. p. 109) die ursprüngliche, zarte Membran der Sporenanlage, welche mit der Spore herangewachsen ist. Innerhalb dieser dünnen Membran, die einen keulenförmigen Schlauch darstellt, liegen die beiden Sporenzellen, jede von einer besonderen Membran umgeben. Diese besteht nun aus zwei Schichten, einer dünnen gleichmäßigen inneren Schicht und einer Zwischenschicht, die den Raum zwischen der innersten und äußersten Schicht ausfüllt. Sie ist an verschiedenen Stellen der Spore von un-

Es ist nun weiter festzustellen, in welcher Weise die Luftfeuchtigkeit bei der Sporenkeimung in Frage kommt. Es sind hier zwei Fälle denkbar: Entweder nehmen die Sporen Wasser direkt aus der Luft auf, oder die Nährpflanze wird durch Sättigung der Luft mit Wasserdampf erst in den für die Sporenkeimung erforderlichen Zustand versetzt. Die erste von diesen beiden Möglichkeiten ist von vornherein wenig wahrscheinlich, denn die äußerste Schicht der Sporenmembran ist für Wasser offenbar nicht durchdringbar. Nach einer Angabe von W. B. Grove (The British Rust Fungi p. 11) sind die Teleutosporen mit einer chitinierten Cuticula überzogen, so daß also Wasser nur durch die Ansatzstelle des Stieles in die Sporen gelangen kann. Es ist außerdem zu beachten, daß in frischen Sporenlagern, die von den Blättern abgeschnitten und mit der Basis auf Wasser gelegt werden, auch dann Keimung eintritt, wenn der Versuch in trockener Zimmerluft angestellt wird, die Oberfläche der Sporenlager sich also nicht in dampfgesättigter Luft befindet. — Wir müssen also daran festhalten, daß bei der Keimung der Sporen das dazu erforderliche Wasser nur durch den Stiel hindurch in die Sporen gelangt, also bei der Keimung auf der lebenden Pflanze den Geweben der letzteren entnommen wird. Dazu ist aber nötig, daß die Pflanze sich in dampfgesättigter Luft befindet, ihre Gewebe also den vollen Turgor haben. Die oben angeführten und noch mehrfach wiederholten Versuche lassen erkennen, daß schon das geringste Herabgehen unter den Sättigungspunkt genügt, um eine normale Keimung unmöglich zu machen.

Zur Prüfung dieses Ergebnisses wurde auch noch folgender Versuch angestellt: Ein mit Sporenlagern besetztes Malvenblatt wurde in schwach welchem Zustande mit dem Stiele durch einen in der Mitte durchbohrten, breiten Kork gesteckt, so daß das Stielende nach oben hervorragte, und sodann mit dem Kork eine bis zu geringer Höhe mit Wasser gefüllte Glasbüchse verschlossen. Der geringe Zwischenraum zwischen Blattstiel und Kork wurde mit angefeuchteter Watte ausgefüllt, so daß sich das Blatt also in einem dampfgesättigten Raum befand. Nach einiger Zeit war das Blatt wieder turgeszent geworden und verblieb anscheinend auch in diesem Zustand. Fünf Stunden nach Beginn des Versuches war an den meisten Sporenlagern eine schwache Keimung bemerkbar, die aber auch nach weiteren zwei Tagen keine Fortschritte gemacht hatte. Bei einer Wiederholung des Versuches wurden in den in der Büchse befindlichen Teil des Blattstieles mehrere Einschnitte gemacht. Hier wurde eine Zunahme des Turgors erst erreicht, als die Glasbüchse nach sechs Stunden aus warmer Zimmerluft (ca. 22°) in den Keller (15°) gebracht wurde. Erst jetzt stellte sich der Beginn einer schwachen Keimung ein. Der Verlauf des Versuches war hier im übrigen der gleiche, nur daß das Blatt später wieder schlaff wurde. Wir dürfen daraus wohl schließen, daß in beiden Fällen der volle Turgor nur für kurze Zeit erreicht wurde und mit dem Nachlassen desselben der Keimungsvorgang zum Stillstand kam. Dieser Eindruck wurde auch durch die mikroskopische Untersuchung der Sporen bestätigt. Die meisten Keimschläuche hatten trotz der langen Dauer des Versuches nicht die normale Länge der Promycelien erreicht und auch noch keine Scheidewände gebildet. Viel spärlicher wurden septierte Schläuche gefunden und nur ziemlich vereinzelt war an ihnen die Bildung einzelner Endkonidien eingetreten. Sporidienbildung wurde nicht gefunden.

Als Ursache des Ausbleibens der Sporidienbildung und der Abgliederung von Endkonidien habe ich auf Grund früherer Versuche (Centralbl. f. Bakt.

Abt. II Bd. 35. p. 282—285) den mangelhaften Turgor in den Geweben der Nährpflanze bezeichnet und dies später (Mycol. Centralbl. Bd. 1. p. 357) dahin ergänzt, daß der infolgedessen auch im Keimschlauch selbst herrschende Turgordruck für den Verlauf des Keimvorganges maßgebend ist, daß also Konidienbildung durch zu geringen Turgor in den Zellen des Promycels veranlaßt wird. Klebahn (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. 24. p. 31) sieht dagegen die Ursache dieser Erscheinung in einer gesteigerten Wasseraufnahme und vermag diese Ansicht mit den von mir gemachten Beobachtungen nur durch die Annahme in Einklang zu bringen, daß bei diesen Versuchen die Sporenlager vielleicht von Kondensationswasser bedeckt gewesen seien. Demgegenüber muß ich feststellen, daß in 50—60 Versuchen die konidienbildenden Keimschläuche über die unbenetzte Oberfläche der Sporenlager frei in die Luft ragten. Es wurde nun aber auch noch der zweite der eben beschriebenen Versuche zu einem Kontrollversuch benutzt, indem in die Glasbüchse mit dem herabhängenden Blatt vor der Versetzung der Büchse in den Keller ein frisches mit der *Puccinia* behaftetes Malvenblatt so gestellt wurde, daß es mit dem Stiel in das in der Büchse befindliche Wasser eintauchte. Nach Verlauf einiger Stunden wurde an diesem von Anfang an turgeszent gebliebenen Blatte üppige Keimung mit sporidienbildenden Promycelien nachgewiesen. Es hatte also auch hier nur das Blatt mit dem geringeren Turgor unter sonst völlig gleichen Umständen Konidienbildung aufzuweisen. — Von dem Eintreten von Konidienbildung an submersen Keimschläuchen wird unten die Rede sein.

Es wird nicht überflüssig sein, einmal den Keimungsvorgang in seinen Einzelheiten zu verfolgen, zumal da die Angaben darüber in der Literatur nur dürftige sind. Über die Bildung der Sporen bei den Basidiomyceten macht De Bary (Vergleich. Morph. u. Biol. der Pilze. 1. Aufl. p. 68) folgende Angaben, die man wohl auch auf die Sporidien (Basidiosporen) der Uredineen wird anwenden dürfen: „Hat die Basidie ihre volle Größe erreicht, so treten an ihrem abgerundeten Scheitel die Sterigmen hervor, als schmal pfriemenförmige Aussprossungen. Wenn dieselben eine bestimmte Länge erreicht haben, so schwillt ihr bis dahin fein gespitztes Ende zu einer Blase an, welche allmählich die Gestalt, Größe und Struktur der fertigen Spore erhält. In dem Maß als dieses fortschreitet, wandert das Protoplasma der Basidie in die Anschwellungen; zuletzt, nach fast vollständiger Ausbildung der Sporen werden diese durch je eine Querwand abgegrenzt, die Basidie hat ihr Protoplasma größtenteils abgegeben, behält jedoch einen dünnen Wandbelag und bleibt turgeszent.“ Man hat diese Darstellung wohl so aufzufassen, daß die Membran an der Spitze eines jeden Sterigmus zu einer Blase auswächst, in welche hinein das Protoplasma der Basidie sich ergießt.

Um unsere Ansicht über den Verlauf des Keimungsvorganges darzulegen, ist es nötig, zunächst kurz den Bau der Sporenmembran von *Puccinia Malvacearum* zu schildern. Dieselbe läßt deutlich drei Schichten erkennen. Zu äußerst zieht sich cuticulaartig eine überall gleichmäßig dünne Schicht über die ganze Spore hinweg und setzt sich nach unten in die Stielmembran fort. Sie ist nach De Bary (l. c. p. 109) die ursprüngliche, zarte Membran der Sporenanlage, welche mit der Spore herangewachsen ist. Innerhalb dieser dünnen Membran, die einen keulenförmigen Schlauch darstellt, liegen die beiden Sporenzellen, jede von einer besonderen Membran umgeben. Diese besteht nun aus zwei Schichten, einer dünnen gleichmäßigen inneren Schicht und einer Zwischenschicht, die den Raum zwischen der innersten und äußersten Schicht ausfüllt. Sie ist an verschiedenen Stellen der Spore von un-

gleicher Stärke, ihre größte Dicke hat sie am Sporenscheitel, ihr allein ist das Vorhandensein einer Scheitelverdickung zuzuschreiben. Ein Keimporus ist an den Sporen von *Puccinia Malvacearum* nicht vorhanden, auch die innerste Schicht weist einen solchen nicht auf.

Bei der Keimung wölbt sich nun die innerste Membranschicht etwas vor, wird an dieser Stelle dünner und schließlich resorbiert. Vermutlich durch die Wirkung eines vom Protoplasma ausgeschiedenen Ferments wird auch der darüber befindliche Teil der Zwischenschicht und der cuticularisierten Außenmembran zerstört und es bildet sich auf diese Weise ein Keimkanal aus. Nach außen zu ist derselbe oft etwas erweitert. Aus diesem Kanal dringt nun das Protoplasma zunächst als nacktes Klümpchen hervor. Die zarte Membran, die am fertigen Promycel den plasmatischen Inhalt umschließt, wird erst während seines Wachstums von ihm selbst ausgeschieden und bildet also nicht die Fortsetzung einer der Schichten der Teleutosporenmembran. Auch die Sporidien lassen anfangs keinerlei Membran erkennen, auch sie sind zunächst nackte Plasmakügelchen an denen eine oberflächliche Schicht erst während ihres Wachstums sich zur Membran entwickelt.

Das Auftreten der Sporidienanfänge als nackte Plasmaklümpchen an den Spitzen der Sterigmen des Promycels setzt voraus, daß an diesen Stellen die Membran durchbrochen wird, daß eine Rißstelle entsteht, aus der das Plasma hervordringt. Vor Eintritt der Sporidienbildung wird die stumpfe Vorstülpung, als welche das Sterigma sich zuerst darstellt, vorn zu einer Spitze ausgezogen. Wenn sich durch frühere Untersuchungen gezeigt hat, daß alle Vorgänge bei der Sporenkeimung von *Puccinia Malvacearum* durch den Turgordruck des Plasmas teils in den Geweben der Nährpflanze, teils in den Zellen des Promycels beherrscht werden, so dürfen wir diesen wohl auch hier zur Erklärung der beobachtbaren Vorgänge heranziehen. Die Umbildung des Sterigmenscheitels zu einer Spitze läßt erkennen, daß die Membran an dieser Stelle stärksten Wachstums für den von innen wirkenden Druck besonders nachgiebig, daß sie also hier besonders dünn ist. Sie wird schließlich so dünn, daß sie dem Drucke nicht mehr Stand zu halten vermag und zerreißt. Diese Vorstellung ist keineswegs ganz aus der Luft gegriffen, denn im weiteren Verlauf des Keimungsvorganges findet an der Spitze des Sterigmas eine zweite Zerreißen statt, die mit voller Deutlichkeit nachweisbar ist. Wenn nämlich die Sporidie ihre endgültige Größe erreicht und ihr Wachstum eingestellt hat, was bei *Puccinia Malvacearum* nach einer halben Stunde der Fall ist, dann tritt dicht neben der Sporidie ein kleines Wassertröpfchen aus der Spitze des Sterigmas aus, das sich zusehends vergrößert und nach etwa 40 Sekunden mitsamt der Sporidie plötzlich fortgeschleudert wird. Hier hat sich also zweifellos ein Riß gebildet, der sich zuletzt plötzlich erweitert und aus dem der wässerige Inhalt der Promycelzelle unter hohem Drucke herausgespritzt wird. — Ob zuvor die Sporidie an ihrer schmalen Ansatzstelle durch eine Scheidewand gegen das Sterigma abgegrenzt wird oder ob die zunehmende Festigkeit der Sporidienmembran und das dadurch bedingte Aufhören des Wachstums die Ursache dafür ist, daß die Membran an der am wenigsten widerstandsfähigen Stelle durchbrochen wird, wird wohl schwer festzustellen sein.

Es mögen hier schließlich einige Bemerkungen über die Keimung unter Wasser Platz finden. Wie schon Klebahn (l. c. p. 29) angegeben hat, werden bei ungenügendem Luftzutritt, z. B. bei der Keimung der Sporen unter Deckgläsern, nur lange, gerade, dünne Keimschläuche gebildet. Ist der Luftzutritt nicht so beschränkt, so sind die Keimschläuche dicker, auch

nicht immer so stark verlängert, nicht selten zerfallen sie am Ende in konidienartige Zellen. Die Ursachen für das Eintreten oder Unterbleiben der Konidienbildung bedürfen nach Klebahn weiterer Erforschung. Nach meinen Erfahrungen ist auch hierfür der Grad des Luftzutritts maßgebend. Sporen, die unter einer mehrere Zentimeter hohen Wasserbedeckung keimen, bilden dicke Keimschläuche von großer Länge, in denen das Plasma sich am vorderen Ende ansammelt, während der größere nach rückwärts liegende Teil des Schlauches mit Wasser gefüllt ist. Eine Abschnürung kurzer konidienartiger Zellen wurde an solchen Schläuchen nicht bemerkt. Diese traten reichlich immer nur an Schläuchen auf, die unmittelbar unter der Oberfläche des Wassers hinwuchsen. Auch für diese unter Wasser gebildeten Konidien braucht man als Ursache ihres Auftretens nach unserem Dafürhalten nicht etwa notwendig eine Steigerung des Turgors durch das aufgenommene Wasser anzunehmen, weil das Volumen der submersen Schläuche stets ein viel größeres ist als dasjenige der normalen Promycelien. Eine Steigerung des Turgors würde nur dann anzunehmen sein, wenn eine Wasseraufnahme in die Schläuche ohne gleichzeitiges Wachstum derselben erfolgte. Eher wird man umgekehrt das Auftreten von Endkonidien als ein Zeichen einer Turgorverminderung ansehen dürfen, für welche die Ursache vielleicht in der Beschränkung des Luftzutrittes zu suchen ist. Bei noch stärkerer Abnahme des letzteren unterbleibt auch die Abgliederung von Endkonidien. —

Ein anderer Punkt, für welchen eine nähere Untersuchung wünschenswert erschien, ist die Ermittlung der Feuchtigkeitsgrade, bei denen die Sporidien die Keimfähigkeit eine bestimmte Zeit lang bewahren. L. Hecke berichtet (l. c. p. 464), daß mit Sporidien, die eine Stunde lang der trockenen Laboratoriumsluft ausgesetzt waren, keine Infektion zu erzielen war. Die von mir in dieser Hinsicht zu diesem Zwecke angestellten Versuche wurden in der Weise ausgeführt, daß die Sporidien, nachdem sie in einem dampfgesättigten Raum unter einer Glasglocke auf Objektträgern aufgefangen worden waren, eine bestimmte Zeit lang in Luft von einem genau kontrollierten Feuchtigkeitsgrad gebracht und dann zu Infektionsversuchen verwendet wurden. Die Dauer für das Auffangen der Sporidien betrug 6—12 Stunden. Die Infektion erfolgte einfach durch Abstreichen der Sporidienmassen auf je ein oder zwei angefeuchtete Blätter junger eingetopfter Malven. Hinsichtlich der Zuverlässigkeit dieser Versuchsanstellung sei erwähnt, daß unbeabsichtigte Infektionen nicht eintraten, daß aber andererseits alle Versuche mit frischem Sporidienmaterial einen positiven Erfolg zeitigten. Das Ergebnis der ausgeführten Versuche ist aus folgender Zusammenstellung ersichtlich:

Dauer des Verweilens der Sporidien in Luft von dem daneben bezeich- neten Feuchtigkeitsgrad			Luftfeuchtigkeit in %	Erfolg
1.	1	Std.	98	reichlich
2.	1	„	97	„
3.	1	„	96	„
4.	4	„	99—96	„
5.	4	„	96	spärlich
6.	4½	„	96	„
7.	2	„	95	reichlich
8.	1¾	„	94—97	„
9.	1¼	„	94	„
10.	1¼	„	93	„
11.	1	„	92	spärlich
12.	1½	„	92	negativ

Dauer des Verweilens der Sporidien in Luft von dem daneben bezeich- neten Feuchtigkeitsgrad		Luftfeuchtigkeit in %	Erfolg
13	1 Std.	90	negativ
14.	16 „	100	„
15.	10 „	100	„

In den Versuchen 5 und 6 erschien, trotzdem zu ihnen wie zu allen übrigen reichliches Sporidienmaterial verwendet worden war, nur je ein Sporenlager. In No. 11 traten nur zwei Sporenlager auf.

Aus diesen Versuchen ist ersichtlich, daß ein mehrstündiges Verweilen der Sporidien in Luft, die nicht mit Wasserdampf gesättigt ist, ihre Keimfähigkeit schon ganz erheblich beeinträchtigt, wenn die Luftfeuchtigkeit nur wenige Prozente vom Sättigungspunkte entfernt ist und daß die Dauer der Zeit, welche zu einem gänzlichen Erlöschen der Keimfähigkeit führt, um so geringer ist, je weiter der Feuchtigkeitsgrad sich vom Sättigungspunkte entfernt. In Luft von 90 Proz. ist sie bereits nach einer Stunde erloschen. Es ist also für das Erlöschen der Keimfähigkeit in erster Linie der durch Verdunstung bewirkte Wasserverlust maßgebend; dieser wird umso früher erreicht, je trockener die Luft ist. Die zwei letzten Versuche lassen aber erkennen, daß auch in dampfgesättigter Luft die Keimfähigkeit nach anscheinend kurzer Zeit erlischt. Hiernach erscheint es sicher, daß die Verbreitung der *Puccinia Malvacearum* von Kontinent zu Kontinent durch Sporidien nicht erfolgt sein kann.

***Puccinia Thlaspeos* Schubert.**

Schon früher (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 35. p. 277) habe ich angegeben, daß bei *Puccinia Thlaspeos* auf *Thlaspi alpestre* ein ähnlicher Zerfall der Promycelien in konidienartige Glieder vorkommt wie bei *Puccinia Malvacearum*. Diese Angabe mag hier etwas weiter ergänzt werden. In Keimung begriffene Sporen findet man bei diesem Pilze stets. Es mag dies zum Teil daran liegen, daß die Nährpflanze in höheren Gebirgslagen und in Flußniederungen, also an Orten wächst, wo der für die Keimung erforderliche Feuchtigkeitsgrad wohl täglich erreicht wird, zumal da die Entwicklung des Pilzes in das zeitige Frühjahr fällt; zum Teil ist es aber auch durch die starke Keimungsenergie des Pilzes selbst bedingt. Schon in ganz jungen, eben erst hervorbrechenden Lagern, die erst wenige reife Sporen enthalten, beginnt sofort die Keimung. An Sporenproben, die unmittelbar ihrem natürlichen Standort entnommen sind, beobachtet man regelmäßig normale, sporidienbildende Promycelien. Setzt man rostkranke Pflanzen von *Thlaspi alpestre* in eine Glasbüchse, die 1—2 cm hoch mit Wasser angefüllt ist, so nimmt der Keimungsvorgang sofort einen anderen Verlauf. Zunächst werden nur noch stumpfe Sterigmen ohne Sporidien oder nur flache, stumpfe Höcker an den Zellen des Promycels gebildet und diese trennen sich voneinander unter Abrundung der Teilglieder. Später unterbleibt die Andeutung der Sterigmen vollständig und es tritt ein allgemeiner Zerfall der Keimschläuche in Konidien ein. Es gelang aber, an denselben Pflanzen die normale Sporenkeimung hervorzurufen, wenn die Büchse mit den Versuchspflanzen mehrere Tage im Keller gestanden hatte. Die an den jüngsten Blättern in-

zwischen erschienenen Sporenlager zeigten nach 5 Tagen durchweg sporidienbildende Promycelien.

Puccinia Buxi DC.

Es mögen hier einige auf den Buchsbaumrost bezügliche Beobachtungen Platz finden, die nicht die Keimungsbedingungen der Sporen, sondern die Bildung und Abschleuderung der Sporidien betreffen. Das Versuchsmaterial erhielt ich zu mehreren Malen aus Blumenhandlungen, die den Buchsbaum aus dem Süden beziehen. Er war also in keinem Falle frisch, sondern mehrere Tage vorher, in einigen Fällen anscheinend schon vor längerer Zeit geschnitten worden. Die Keimung wurde meist durch Auslegen abgeschnittener Sporenlager auf flache Wassertropfen unter einer Glasglocke herbeigeführt und verlief in den einzelnen Versuchen verschieden. Bei normaler Keimung betrug die größte Flugweite der abgeschleuderten Sporidien 0,87 mm. Sie ist also größer als für die Mehrzahl der Puccinien, für die sie etwa 0,6 mm beträgt und stimmt überein mit der für mehrere Arten der Gattung *Coleosporium* beobachteten¹⁾. Dies hängt sicher damit zusammen, daß die Sporen und demgemäß auch die Sporidien von *Puccinia Buxi* diejenigen der meisten anderen Arten von *Puccinia* an der Größe bedeutend übertreffen und die Sporidiengröße mit derjenigen von *Coleosporium* übereinstimmt. — In anderen Versuchen wurden Sporidien zwar gebildet, sie blieben aber an ihren Sterigmen sitzen. Abgesehen von sehr unregelmäßigen Keimungsbildern wurde häufig die Bildung langer in die Luft ragender Schläuche ohne Sporidienbildung beobachtet. An diesen kam es nie zur Bildung von Endkonidien und nur in einem Falle war an Keimschläuchen, die unter der Wasseroberfläche wuchsen, die Abgliederung kurzzyklischer, an den Enden abgerundeter Zellen eingetreten. Nach meinen bisherigen Erfahrungen scheint es, als ob eine Art um so mehr zur Bildung von Endkonidien neigt, je größer die Keimungsenergie ihrer Sporen ist.

Nachdruck verboten.

Über besondere Keimungsbedingungen, welche die Samen der Zwerg-Mistel *Arceuthobium Oxycedri* (DC.) M. Bieb. beanspruchen.

Von Prof. Dr. E. Heinricher, Innsbruck.

Direktor des bot. Gartens.

In dieser Mitteilung beschränke ich mich auf die gewonnenen Erfahrungen über die Keimungsbedingungen, die in bemerkenswerter Weise von denen unserer Mistel, *Viscum album*, abweichen. Den interessanten Entwicklungsgang von *Arceuthobium* werde ich demnächst an anderer Stelle schildern.

Genauer erforscht waren von Lorantheen nur die Keimungsbedingungen der gewöhnlichen Mistel, *Viscum album*, und der Eichenmistel, *Loranthus europaeus*. Für die Mistel kann als sichergestellt angesehen werden, daß das Licht ein zur Keimung unbedingt nötiger Faktor ist, daß am Lichte aber die Keimung — bei genügender Feuchtigkeit und Temperatur —

¹⁾ Vgl. Dietel, P., Über die Abschleuderung der Sporidien bei den Uredineen. (Mykol. Centralbl. Bd. 1. p. 356.)

auch auf beliebigem totem Substrate, sowohl organischer als anorganischer Natur¹⁾, vor sich gehen kann.

Die Keimung von *Loranthus europaeus* weicht von der der Mistel dadurch ab, daß sie auch im Dunkeln vor sich gehen kann. Ursprünglich hatte Wiesner auch für *Loranthus europaeus* das Licht als notwendigen Faktor zur Keimung erklärt²⁾, später wies er aber nach, daß dies nicht der Fall ist³⁾. Gelegentliche Versuche, die Dr. Sperlich in unserem Institute durchgeführt hat, haben dies bestätigt. Auch *Loranthus europaeus*-Samen bedürfen als Unterlage keines lebenden Materials. Soviel mir bekannt, wurden die Keimungsversuche auf Holzbrettchen durchgeführt; ob auch totes, anorganisches Substrat als Unterlage der Samen benützt wurde, weiß ich nicht und es erscheint mit Berücksichtigung der im Folgenden zu schildernden Erfahrungen mit *Arceuthobium* noch fraglich, ob auch auf solchem Keimung eintritt.

Ich möchte dies aber für wahrscheinlich erachten im Hinblick darauf, daß der Parasitismus von *Loranthus europaeus* ohne Zweifel weniger anspruchsvoll erscheint als derjenige von *Arceuthobium*.

In einem ersten Versuche wurde nur die Frage zu entscheiden gesucht, ob für die Samen des *Arceuthobium* Licht zur Keimung nötig sei. Am 12. Dezember 1912 aus Puzzole in Istrien bezogene Samen wurden am 13. Dezember zu je 25 auf 2 Glasplatten aufgetragen, die auf einem Ständer vertikal aufgestellt waren. Beide Platten wurden in das nach Süden gelegene Versuchsgewächshaus gebracht; die eine war dem vollen Lichte ausgesetzt, stand aber ab 8. Januar unter einer Glasglocke, die zweite Platte wurde unter einen Pappzylinder gestellt. Für Feuchtigkeit sorgte wassergetränktes Filterpapier unterhalb des Ständers. Der Versuch wurde bis 17. März 1913 geführt, eine Keimung trat weder auf der verdunkelten, noch auf der belichteten Platte ein. Die Samen waren zum größten Teile von Schimmel überzogen, vielfach, auch geschrumpft und vertrocknet. Zu gleicher Zeit hatten im Kalthaus auf *Juniperus*pflanzen ausgelegte Samen schon reichlich gekeimt.

Der Mißerfolg wurde zum Teil der zu hohen Erwärmung des S-Hauses bei Sonnenschein oder allenfalls zu hoher Lichtintensität zugeschrieben und für nächstes Jahr eine Wiederholung der Versuche im nordseitig gelegenen Versuchsgewächshaus beschlossen.

Am 20. Dezember 1913 langten wieder Beeren aus Puzzole ein. In den folgenden Tagen wurden damit nachstehende Versuche eingeleitet.

A) Im Nordhaus:

1. Eine schwarze⁴⁾ Glasplatte wurde mit 30 Samen belegt und unter einen Dunkelsturz gebracht.
2. Eine zur Hälfte weiße, zur Hälfte schwarze Glasplatte wurde mit

¹⁾ Holzbrettchen einerseits, andererseits Glasplatten sind vielfach als Substrat für zur Keimung ausgelegte Mistelsamen verwendet worden.

²⁾ Wiesner, J., Vergleichende physiologische Studien über die Keimung europäischer und tropischer Arten von *Viscum* und *Loranthus*. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien. Mathem.-naturw. Kl. Bd. 103. Abt. I. 1894. p. 5.)

³⁾ Wiesner, J., Über die Ruheperiode und über einige Keimungsbedingungen der Samen von *Viscum album*. (Ber. d. Deutsch. Botan. Ges. Bd. 15. 1897. p. 512.)

⁴⁾ Schwarze Glasplatten wurden verwendet, um das eventuell hervortretende etiolierte Hypokotyl leichter unterscheiden zu können. Man muß sich hüten, einen am spitzeren Pol des Samens oft vorhandenen, festeren Anhang von Schleimgewebe mit einer etiolierten, hervorgetretenen Radicula zu verwechseln.

20 + 20 Samen, verteilt auf die Hälften der Platte, beschickt und ebenfalls unter einen Dunkelsturz gebracht.

3. Eine gewöhnliche Glasplatte wird mit 30 Samen beschickt, auf einem Porzellanteller horizontal ausgelegt und bleibt dem Lichte ausgesetzt. Von Feuchtigkeit stand diesen Samen nur die des Hauses zur Verfügung.

4. Eine Glasplatte wie unter 3, doch vom 10. Februar an durch einen unter die Platte gebrachten, mehrfach zusammengelegten Bogen Filterpapier, der mit Wasser getränkt wurde, ferner durch teilweise Deckung der Porzellanschale mit einer Glasplatte feuchter gehalten, als die Platte unter 3.

5. Ein größeres Stück Filterpapier von dem Bogen, der die beerentragenden Zweige in dem Transportkistchen umhüllt hatte, und auf den, während der Fahrt von Capodistria nach Innsbruck, ein beträchtlicher Teil reifer Beeren ihre Samen ausgespritzt hatte¹⁾. Das Papier wurde einfach auf der Terrazzo-Arbeitsfläche des Gewächshauses ausgebreitet und meist täglich mit Wasser genetzt.

B. Im Kalthaus.

Auf 2 Fichtenbrettchen wurden je 20 Samen ausgelegt.

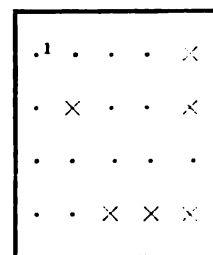
Am 15. Februar 1914 wurden auch diese beiden Kulturen ins N-Haus übertragen und weiterhin insofern verschieden behandelt, daß das eine Brettchen aus dem Untersatz, in welchem es verspreizt stand, mit der unteren Kante Wasser aufsaugen konnte, während das 2. Brettchen einer solchen Wasseraufnahme entbehrte.

Zunächst sei das Ergebnis der unter B angeführten Versuche mitgeteilt. Es sei mit a jenes Brettchen bezeichnet, das vom 15. Februar 1914 an Wasser aufsaugen konnte, das zweite mit b. Schon in der Zeit, da die Brettchen im Kalthaus standen, traten auf beiden die ersten Keimungen ein. Auf a ein Keimling am 20. Januar, auf b ebenfalls ein Keimling am 30. Januar. Vom 15. Februar an erfolgten Keimungen nur mehr auf a. Am 18. Februar waren 2, am 19. Februar 4, am 9. März 5, am 20. März 6 und am 24. März 7 Samen gekeimt. Auf dem Brettchen b kam kein weiterer Keim zum Vorschein, auch dann nicht, als vom 27. März an auch diesem Brettchen Wassersaugung von unten her ermöglicht wurde.

Daß auf dem Brettchen a der bessere Keimerfolg zum Teil mit der Wasseraufnahme zusammenhängt, wird durch die Verteilung der Keimlinge am Brettchen wahrscheinlich gemacht. Der mit 1 bezeichnete Keimling (vgl. die schematische Figur) war schon im Kalthaus aufgetreten. Die übrigen, mit Kreuzchen bezeichneten Keimlinge lagen aber einerseits in einer Längslinie, in der ersichtlich das Wasser am besten aufstieg, andererseits in der untersten Querreihe, die der aufsaugenden Kante des Brettchens am nächsten war.

Gehen wir nun zur Besprechung der unter A angeführten Versuche über.

Sehr lehrreich war das Verhalten der unter 5 angeführten, auf weißem Filtrierpapier ausgelegten Samen. Am 18. Februar wurde hier der erste Keim beobachtet und stieg die Zahl der Keimlinge rasch an, betrug z. B. am 9. Februar 19 und war am 3. März mit 46 am Höhepunkt angelangt. An diesem



¹⁾ Es sei daran erinnert, daß *Arceuthobium* seinen Samen aus der reifen, basal sich ablösenden Beere herausschießt; die peripheren Gewebe dieser bleiben gewissermaßen als leere Patronenhülse zurück und finden sich oft massenhaft im zwischen dem Astwerk der Wachholder vorhandenen Spinnengewebe.

Tage wurden noch 56 ungekeimte, offenbar schlechte Samen auf dem Filterpapier gezählt, die also wohl über 50 Proz. der vorhandenen darstellten.

Dieser Verlauf der Keimung auf dem Filterpapier, der Tatsache gegenüber gestellt, daß am 10. Februar den 23 hier vorhandenen Keimen auf allen Glasplattenaussaaten keine einzige Keimung zu verzeichnen war, legte zuerst den Gedanken nahe, daß bei der Keimung von *Arceuthobium* ein chemischer Anreiz notwendig sei und Cellulose ein geeigneter Reizstoff sein dürfte. Andererseits war aber auch noch die Auffassung möglich, daß die Luftfeuchtigkeit, die den Glasplattenkulturen zu Gebote gestanden war — eine nicht ausreichende gewesen und die Keimung auf dem Filterpapier der meist täglich einmal erfolgten Benetzung desselben mit Brunnenwasser zuzuschreiben wäre.

Um diese Frage zu prüfen, wurden vom 10. Februar an die beiden unter 3 und 4 angeführten Lichtkulturen auf Platten von gewöhnlichem Glas verschieden behandelt. Bei der Platte sub 3 wurde das bisherige Verfahren beibehalten; ihren Samen stand nur die im Gewächshaus vorhandene Feuchtigkeit zur Verfügung¹⁾. Bei der Platte sub 4 wurde aber für vermehrte Feuchtigkeit gesorgt. Dies wurde so erzielt, daß unter die Glasplatte auf dem Kulturteller ein zusammengelegter, wassergetränkter Bogen schwedischen Filtrierpapiers kam und überdies der Teller mit der Kultur oben durch eine Glasplatte gedeckt wurde. Diese Deckung war, um das Verschimmeln der Samen zu verhüten, zumeist nur eine partielle. Jedenfalls war die Luftfeuchtigkeit, die den auf der Platte befindlichen Samen geboten wurde, eine sehr hohe; öfters trat Kondensierung des Wasserdampfes auf der deckenden Platte ein. Auch unter diesen Verhältnissen kam aber bis 4. April keine Keimung auf dieser Platte vor. Ebensowenig war bis zum 16. März auf der Platte 3 eine Keimung erzielt worden. Die Samen dieser Platte wurden aber am genannten Tage auf Filterpapier übertragen. Obwohl nach dem Aussehen zu schließen war, daß ein beträchtlicher Teil der Samen bereits tot sein würde, wollte ich doch versuchen, ob noch welche durch das Filtrierpapier zur Keimung angeregt werden könnten. In der Tat war dies der Fall; schon am 27. März wurden 3 Keimlinge, am 31. März 5 festgestellt, und bis zum 23. April waren noch 6 Keime hinzugekommen, so daß, über mein Erwarten gehend, von 30 Samen 11 gekeimt hatten. Diese Zahl wurde dann bis 11. Mai nicht überschritten und darauf die Kultur aufgegeben.

Das Ergebnis mit Platte 3 war Veranlassung, auch die Samen der Platte 4, die erhöhter Luftfeuchtigkeit vom 10. Februar bis 4. April ohne Erfolg ausgesetzt gewesen waren, am 4. April auf Filterpapier zu übertragen. Auch hier geschah dies nicht ohne Erfolg, obschon die große Feuchtigkeit eher schädlich

¹⁾ Während der ganzen Versuchszeit wurden im N.-Haus, in dem ja gleichzeitig auch andere Versuche mit Mistelsamen liefen, täglich das Temperatur-Maximum und -Minimum bestimmt, wie auch vormittags die Luftfeuchtigkeit notiert. Geheizt wurde nur untertags, daher der nächtliche Abfall der Temperatur ein ziemlich beträchtlicher war. Über die Verhältnisse, die rücksichtlich Temperatur und Feuchtigkeit herrschten, werden folgende Angaben aufklären:

	Temp.-Max.	Min.	rel. Feuchtigkeit	
			Max.	Min.
Dez. 20.—30.	20,5 °C	5 °C	76 %	47 %
Januar	24,0	2,5	70	43
Februar	28,0	4,5	80	53
März	28,5	7,0	80	40

Das Minimum rel. Feuchtigkeit mit 40 wird selten eingetreten sein; zumeist wird die Feuchtigkeit untertags zwischen 60—70 Proz. geschwankt haben, nachts, mit dem Temperaturabfall, aber höhere Werte gewiesen haben.

als nützlich gewirkt hatte und augenscheinlich ein Großteil der Samen verfallen war. Schon am 8. April war eine Keimung eingetreten, am 16. April waren 3 Keime vorhanden und am 23. April 5. Der Rest der Samen war offenbar abgestorben.

Diese Versuche scheinen mir deutlich zu zeigen, daß *Arceuthobium*-Samen, im Gegensatze zu jenen der Mistel, auf totem, anorganischen Material (Glasplatten) nicht zu keimen vermögen, hierzu aber durch Zellulose als Reizstoff in vorzüglicher Weise angeregt werden. Auch bei den Keimungen auf den Fichtenholzbrettchen (letztere erwiesen sich ja weniger wirksam) dürfte der Zellulose die Reizwirkung zuzuschreiben sein.¹⁾

Der Einwurf, der vielleicht gemacht werden könnte, daß die Keimung auf dem Filterpapier der wiederholten Zufuhr von liquidem Wasser zuzuschreiben sei, wird dadurch widerlegt, daß die ersten Keimungen auf den beiden Fichtenholzbrettchen ohne eine solche Zufuhr erfolgten.

Es erübrigt noch die Besprechung der unter 1 und 2 angeführten Versuche mit Verdunkelung der auf Platten ausgelegten Samen.

Daß auch auf diesen Glasplatten keine Keimung erzielt wurde, wird ja nunmehr selbstverständlich erscheinen, nachdem auf den belichteten Platten ein vollständiges Versagen der Keimung konstatiert war. Dennoch gehört zu den zur Keimung für *Arceuthobium* notwendigen Bedingungen, außer einem chemischen Anreize, wahrscheinlich auch die Anwesenheit des Lichtes.

Die 30 Samen des Versuches 1 (A), die vom ca. 22. Dezember 1913 bis 2. April 1914 unter Dunkelsturz auf schwarzer Glasplatte im N-Hause gelegen waren, ohne daß eine Keimung aufgetreten wäre, wurden an diesem Tage auf Filterpapier übertragen und nun dem Lichte ausgesetzt. Am 23. April wurde bei 2 Samen ein Keimbeginn festgestellt, weitere Keimungen traten bis 12. Mai, wo dann die Kultur skartiert wurde, nicht ein.

Auch hier versagte also das Zellulosepapier seine Wirkung nicht vollends. Es ist aber zweifellos, daß die Verdunkelung auf die Samen des *Arceuthobium* schädigend einwirkt, ebenso wie auf solche der Mistel. Auf diesen schädigenden Einfluß wurde schon von Tubeuf²⁾ und von mir³⁾ auf Grund gelegentlicher Beobachtungen hingewiesen. Inzwischen habe ich nach dieser Richtung eingehende und exaktere Versuche mit Mistelsamen angestellt, welche diesen schädlichen Einfluß der Verdunkelung in aller Klarheit zum Ausdruck bringen. Doch habe ich über diese Versuche noch nichts veröffentlicht und soll dies erst in nächster Zeit — in Zusammensetzung mit andern Versuchsreihen über die Keimung der Mistel, geschehen. Es gestatten mir aber diese Versuche zu sagen, daß die *Arceuthobium*-Samen weniger stark durch

¹⁾ Das gegensätzliche Ergebnis mit den p. 707 besprochenen Brettchen a und b, in dem auf dem einen 7, auf dem anderen nur eine Keimung erzielt wurde, mag außer von dem Grad der Durchtränkung mit Wasser, auch vom Grade der Verholzung abhängig sein. Auch wird mit der stärkeren Durchtränkung die im verholzten Gewebe steckende Zellulose vermutlich an Reizkraft für die Samen gewinnen.

²⁾ Für *Viscum album* in der Abhandlung „*Viscum cruciatum* Sieb., die rotbeerige Mistel“. (Naturwiss. Zeitschr. f. Land- u. Forstw. 1908. p. 502.)

³⁾ Heinricher, E., Samenreife und Samenruhe der Mistel (*Viscum album* L.) und die Umstände, welche die Keimung beeinflussen. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien; Mathem.-naturw. Kl. Bd. 121. Abt. I. 1912. p. 15 des S.-Abdr.)

Lichtentzug in ihrem Keimvermögen geschädigt werden, denn die Samen waren durch gut 3 Monate verdunkelt und doch keimten an das Licht gebracht — unter Mitwirkung des Zellulosesubstrates, noch nahezu 7 Proz., was meinen Erfahrungen nach bei Mistelsamen nach so langer Dauer der Verdunkelung nicht zu erzielen gewesen wäre.

Die schädigende Wirkung der Verdunkelung auf die *Arceuthobium*-Samen kommt aber wahrscheinlich auch in der späten Keimung der beiden noch keimfähig gebliebenen zum Ausdruck. Denn die von der belichteten Glasplatte (Versuch 3) am 16. März auf Filterpapier übertragenen Samen wiesen schon am 27. März 3 Keimlinge auf (also am 11. Tage nach der Übertragung), während bis zur Keimung der 2 Samen aus dem Versuche 1 21 Tage verliefen¹⁾.

Was den unter 2 angeführten Versuch betrifft, wo 20 + 20 Samen auf die Hälften einer weiß-schwarzen Glasplatte ausgelegt und unter einen Dunkelrezipienten gestellt worden waren, so wurde derselbe, nachdem bis 28. Februar, also nach gut 2 Monaten, keine Keimung eingetreten war, zu nachstehenden sekundären Versuchen ausgenützt. Zunächst wurde, nachdem die fördernde und Keimung auslösende Wirkung des Filterpapiers erkannt worden war, versucht zu entscheiden, ob diese Wirkung auch im Dunkeln eintritt. Es wurden deshalb am 28. Februar die Samen, welche auf der schwarzen Hälfte der Platte lagen, mit einem mehrfach zusammengelegten, wassergetränkten Bogen Filterpapiers überdeckt. Es trat keine Keimung ein, auch später nicht, als vom 24. März ab die Samen auf die freie Oberfläche des Filterpapiers überlagert wurden. Es scheint somit außer einer chemischen Reizung auch das Licht als weiterer Faktor zur Keimung von *Arceuthobium* nötig zu sein. Diese Frage wird allerdings einer weiteren Erhärtung durch neue Versuche bedürfen. Denn für den vorliegenden Fall ist der Einwurf berechtigt, daß durch das lange Lagern im Dunkeln die Keimkraft der Samen schon stark geschwächt war. Noch wäre es denkbar, daß frisches Saatgut unter dem chemischen Anreiz des Filterpapiers den Lichtmangel zu überwinden und auch im Dunkeln zu keimen vermöchte.

Die 20 Samen auf der weißen Hälfte der Glasplatte blieben bis 20. April verdunkelt. An diesem Tage erst wurden sie auf Filterpapier übertragen und dem Lichte ausgesetzt. Am 11. Mai wurde ein Keimling gefunden. Nach nahezu 4-monatlicher Verdunkelung war also durch Lichtexposition und Filterpapier als Unterlage noch eine Keimung zu erzielen. Der Rest der Samen war seiner Verfärbung nach tot und wurde die Kultur am 12. Mai aufgelassen.

Bei diesen Kulturen ist darauf aufmerksam zu machen, daß insofern größere Schwierigkeiten vorliegen als bei *Viscum*, daß mit einem Saatgut gearbeitet wurde, bei dem von vornherein ein vielleicht 50 Proz. betragender Teil der Samen schlecht war, während man bei der Mistel unter günstigen Kulturbedingungen häufig 100 Proz. Keimlinge erhält. Saatgut der letzteren ist stets leicht frisch zu beschaffen und besitzt am selben Busch einen nahezu gleichen Reifegrad. Das Saatgut von *Arceuthobium* mußte von auswärts bezogen werden und sind meinen Erfahrungen nach an demselben Busche Beeren recht verschiedenen Reifegrades vorhanden. Dies kommt dadurch zustande, daß auch die Blüteperiode eine sehr lange ist und damit wird

¹⁾ Dieser Schluß wird dadurch gestützt, daß bei *Viscum album* Verdunkelung der Samen durch kürzere Zeit, bei späterer Wiederbelichtung, sich in einer Verzögerung der Keimung äußert. (Nach vorläufig noch nicht veröffentlichten Untersuchungen.)

auch teilweise das sehr ungleiche Einsetzen der Keimung, das auch unter normalen Bedingungen an den Wirtspflanzen zu beobachten ist, im Zusammenhang stehen.

Immerhin lassen sich auf Grund der dargestellten Versuche folgende Ergebnisse als sichergestellt oder sehr wahrscheinlich anführen:

1. *Arceuthobium* keimt nicht wie die Mistel auf beliebiger toter Unterlage; auf Glasplatten, also auf anorganischem Material, trat keine Keimung ein.

2. Hingegen keimten die Samen auf Brettchen von Fichtenholz und ganz besonders gut auf reinem, schwedischem Filtrierpapier, also auf organischem toten Substrat. Man wird also einen von solchem Substrat ausgehenden Anreiz der Samen zur Keimung annehmen und diesen in der Zellulose erblicken dürfen.

3. Auch für *Arceuthobium* ist das Licht zur Keimung der Samen nötig, sowie für diejenigen der Mistel.

4. Längere Verdunkelung wirkt, so wie für die Samen der Mistel, auch für *Arceuthobium*-Samen schädigend und die Keimkraft vernichtend, doch ist die Empfindlichkeit dafür bei *Arceuthobium* geringer, denn selbst nach 4-monatlicher Verdunkelung konnte eine Keimung am Lichte erzielt werden, was bei der Mistel keineswegs zu erlangen ist.

5. Die Abhängigkeit von einer chemischen Reizung steht bei *Arceuthobium* wohl im Zusammenhang mit seinem vorgeschrittenen Parasitismus. Wir finden die Notwendigkeit chemischer Reizung zur Keimung nachgewiesen für die Samen der absoluten Parasiten: *Orobanch* (nach Koch¹), *Lathraea* (nach Heinricher²) und *Tozzia* (nach Heinricher³), die, wenigstens in der ersten Lebensperiode, absoluter Ganzschmarotzer ist. Die inzwischen studierte, wenn auch noch nicht veröffentlichte Entwicklungsgeschichte von *Arceuthobium* erweist ebenfalls einen gegenüber *Viscum* und *Loranthus* sehr vorgeschrittenen Parasitismus.

Das hier Mitgeteilte regt zu mehrfachen neuen Fragen an und erheischt nebst einer erweiterten Kontrolle und Prüfung der ausgesprochenen Sätze einen Ausbau nach mannigfacher Richtung; insbesondere werden noch weitere Stoffe, die etwa Anreiz zur Keimung zu vermitteln vermögen, zu suchen sein. Mit diesen Fragen wird sich einer meiner Schüler in nächster Zeit beschäftigen.

Innsbruck, Botanisches Institut der Universität, im August 1914.

¹) Koch, L., Die Entwicklungsgeschichte der Orobanchen. Heidelberg 1887. p. 1 ff.

²) Heinricher, E., Die Keimung von *Lathraea*. (Ber. d. Deutsch. Botan. Gesellsch. Bd. 12. 1894.) — Notiz über die Keimung von *Lathraea Squamaria* L. (Ebendort. Bd. 16. 1898.)

³) Heinricher, E., Zur Entwicklungsgeschichte einiger grünen Halbschmarotzer. Vorl. Mitt. (Ebendort. Bd. 17. 1899.) — Die grünen Halbschmarotzer. III. *Bartschia* und *Tozzia*, nebst Bemerkungen zur Frage nach der assimilatorischen Leistungsfähigkeit der grünen Halbschmarotzer. (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 36. 1901.)

Die Antigen-Mischmethode.

Von Privatdozent Dr. A. Zade, Jena.

Die Unterscheidung von Sorten landwirtschaftlicher Kulturpflanzen stößt oft auf recht erhebliche Schwierigkeiten, ganz besonders, wenn nicht ganze Pflanzenbestände unterschieden bzw. identifiziert werden sollen, sondern eine Anzahl Samenkörner.

Da mitunter absichtliche Vermischungen von Saatgut verschiedener Sorten vorgenommen werden und nicht selten Sorten in den Handel gebracht werden, deren Bezeichnung nicht der Wahrheit entspricht, so wäre es von großer praktischer Bedeutung, mit Hilfe serologischer Untersuchungen die Sortenidentifizierung zu ermöglichen.

Ich hatte Gelegenheit, dieses so gut wie unerforschte Gebiet zu bearbeiten und darüber in einer längeren Abhandlung¹⁾ zu berichten. Das Ergebnis der Untersuchungen²⁾ soll hier nicht weiter behandelt werden, nur sei kurz erwähnt, daß sich mit Hilfe der Präzipitinmethode alle diejenigen Sorten einwandfrei identifizieren ließen, welche nicht stammverwandt sind, d. h. sämtliche „genetisch nicht identischen“ Sorten. Dagegen gelang die Unterscheidung nicht bei den genetisch identischen.

Da anzunehmen ist, daß dem Leser der Begriff „Sorte einer landwirtschaftlichen Kulturpflanze“ nicht ganz geläufig sein wird, so seien kurz einige Beispiele erwähnt. Der Probsteier Hafer ist eine alte Landsorte, die, wie alle Landsorten, ein Formengemisch darstellt. Aus dieser nicht einheitlichen Sorte sind durch „Formentrennung“ mehrere „neue“ Sorten entstanden, deren jede die Nachkommenschaft gewisser selbständiger Typen der Ursprungssorte darstellt. Diese Tochtersorten sind nun serologisch weder unter sich, noch im Vergleich zur Muttersorte zu unterscheiden gewesen; dagegen waren serologisch alle diejenigen Hafersorten vom Probsteier Hafer als unterschiedlich abzuweigen, die nicht stammverwandt sind, beispielsweise der Leutewitzer Hafer. Genau so lagen die Verhältnisse naturgemäß auch bei anderen Getreidearten, wie beim Weizen, und den Leguminosen, z. B. den Erbsen.

Die Sortenunterscheidungsmöglichkeit auf serologischem Wege ist also, wenn auch nur bedingt, praktisch durchführbar. Doch stößt man in der Praxis insofern auf unüberbrückbare Schwierigkeiten, als die Sortenzahl zu groß ist, als daß man imstande wäre, von einer jeden Sorte ein hochwertiges Serum herzustellen. Rechnet man damit, daß allein bei einer der vier Hauptgetreidearten mindestens etwa 30 Sorten — wenn man die unwichtigeren hinzuzählt, sogar erheblich mehr — als zu unterscheidende, bzw. zu identifizierende in Frage kommen, so müßte man schon, da erst jedes 3. bis 4. Versuchstier hochwertiges Serum liefert, $30 \times 3-4$, d. h. 90—120 Kaninchen impfen. Berücksichtigt man ferner die Kosten für die Tiere, deren Haltung und Fütterung und namentlich die gewaltige Arbeit, welche die steril auszuführenden Impfungen, die Serumgewinnung und alle sich daran anschließenden Arbeiten verursachen, so zeigt sich alsbald, daß das bisherige Verfahren schwerlich in die große Praxis umzusetzen sein dürfte.

Die im folgenden zu schildernde „Antigen-Mischmethode“ paßt sich nun insofern den praktischen Bedürfnissen beträchtlich besser an, als die Zahl

¹⁾ Zeitschr. f. Pflanzenzüchtung. Bd. 2. 1914. p. 101 ff.

²⁾ Es wurde bei allen Versuchen ausschließlich die Präzipitin-Schichtmethode angewendet.

der Versuchstiere und damit sämtliche zeitraubenden Arbeiten sich erheblich einschränken lassen. Es sind auf Grund dieses Verfahrens anstelle von 30 Versuchstieren nur noch ungefähr 4—5 erforderlich. Daß dies eine wesentliche Vereinfachung und Ersparnis bedeutet und dadurch die praktische Durchführung ganz beträchtlich unterstützt wird, bedarf keines weiteren Kommentars.

Der Grundgedanke der Antigen-Mischmethode ist folgender. Es werden die Samenkörner von etwa 6 der zu diagnostizierenden Sorten zu gleichen Gewichtsteilen miteinander vermischt und zu Mehl zermahlen. Das „Mischmehl“ wird mit physiologischer Kochsalzlösung extrahiert, so daß im Extrakt die Antigene von 6 verschiedenartigen Sorten derselben Art (beispielsweise 6 Erbsen- oder 6 Weizensorten) enthalten sind. Die so gewonnenen Extrakte werden nun nach erfolgter Filtration zu den Injektionen verwendet, die man in beliebiger Weise (subkutan, intraperitoneal oder intravenös) ausführen kann. Das Serum der so vorbehandelten Tiere liefert nun Präzipitinreaktionen mit den Antigenen sämtlicher 6 zum Impfen benutzter Sorten, doch mit dem wichtigen Unterschiede, daß die Reaktionen am stärksten verlaufen, wenn auf das Serum vollhomologer Extrakt (im vorliegenden Falle Extrakt aus allen 6 Sorten) geschichtet wird. Schichtet man Extrakt aus nur einer der 6 Sorten, gleiche Konzentrationsverhältnisse vorausgesetzt, darüber, so fallen die Reaktionen ungemein schwächer aus, so schwach, daß schon bei relativ geringer Serumverdünnung kein Reagieren mehr stattfindet. Die Reaktionsintensität nimmt dementsprechend sukzessive zu mit Zunahme der Anzahl der betreffenden Sorten, deren Mehle zur Antigenherstellung Verwendung gefunden haben. Wichtig ist nun, daß ein „fast“ vollhomologes Antigen, um bei unserem Beispiel zu bleiben, ein Antigen aus nur 5 der 6 zum Impfen verwendeten Sorten, schon eine erheblich geringere Reaktionsintensität aufweist, als das völlig homologe (d. h. dasjenige aus allen 6 Sorten). Es gelingt leicht, das Serum gerade so stark zu verdünnen, daß innerhalb einer gewissen Beobachtungszeit nur noch das „völlig“ homologe Antigen Präzipitine erzeugen läßt, aber nicht mehr dasjenige Antigen, das wir als „fast“ vollhomolog bezeichneten, m. a. W. dem Extrakt aus nur einer der erwähnten 6 Sorten fehlt.

Der Nachweis der Identität einer Sorte wird nun, wie folgt, auf dem Wege der Differenzbestimmung erbracht. Nehmen wir an, es handle sich darum, eine Samenprobe zu identifizieren, und nehmen wir ferner an, daß die in unserem Beispiel erwähnten 6 Sorten u. a. gerade diejenige Sorte enthalten, welche mit der fraglichen identisch ist, so würden wir in der Praxis folgendermaßen zu verfahren haben. Wir stellen uns zunächst einen vollhomologen Extrakt (aus allen 6 Sorten) her, alsdann einen Extrakt aus nur 5 der 6 Sorten, selbstverständlich ohne am Konzentrationsverhältnis etwas zu ändern. Mit dem 5-Sortenextrakt erhalten wir nun gemäß vorausgegangener Schilderung bei gewisser Serumverdünnung keine nennenswerten Präzipitate mehr, mit dem 6-Sortenextrakt dagegen noch kräftige. Wir setzen nun zu dem 5-Sortenextrakt Extrakt aus der fraglichen Sorte, ohne ihn konzentrierter zu machen, hinzu und warten alsdann die Reaktionsstärke ab. Angenommen diese nimmt nicht zu, sondern bleibt wie sie war, so wissen wir, daß die fragliche Sorte nicht diejenige ist, welche wir als Minussorte bei der Extrakterstellung fortgelassen haben. Nun probieren wir weiter, indem wir eine andere Sorte als „Minussorte“ fortlassen, wiederum Extrakt aus der fraglichen Sorte zusetzen und die Reaktionsstärke abwarten. Wir verfahren in genau derselben Weise solange.

Präzipitierende eiweißhaltige Lösung von:

Präzipitierende eiweißhaltige Lösung von:						
Mischserum von sechs ¹⁾ Erbsensorten	allen 6 Sorten ¹⁾ (vollhomolog)	5 ²⁾ der 6 zum Impfen benutzten Sorten	4 ³⁾ der 6 zum Impfen benutzten Sorten	3 ⁴⁾ der 6 zum Impfen benutzten Sorten	2 ⁵⁾ der 6 zum Impfen benutzten Sorten	1 ⁶⁾ der 6 zum Impfen benutzten Sorten
Verdünnung: 1 : 3	¼ Min. + 1 " ++ 2 " ++	¼ Min. + 1 " ++ 2 " ++	½ Min. + 1 ½ " ++ 2 ½ " ++	½ Min. + 2 " ++ 3-4 " ++	½-1 Min. + 2-3 " ++ 5 " ++	½-1 Min. + 3 " ++ 6-7 " ++
Verdünnung: 1 : 5	1 Min. + 2 ½ " ++ 4 ½ " ++	1 Min. + 3 " ++ 5-6 " ++	1 ½ Min. + 4-5 " ++ 9 " ++	2 Min. + 6 " ++ 13 " ++	3 Min. + 12 " ++ 35 " ++	4-5 Min. + 20 " ++ 40-50 " ++
Verdünnung: 1 : 8,5	2 Min. + 5 " ++ 8-9 " ++	3-4 Min. + 10 " ++ 28 " ++	4-5 Min. + 13 " ++ 35-38 " ++	5 Min. + 16 " ++ 45 " ++	5-6 Min. + 20 " ++ 60 " ++	6-8 Min. + 45 " ++ 60 " ++
Verdünnung: 1 : 9,5	3 Min. + 7-9 " ++ 16-18 " ++	5 Min. + 19 " ++ 60 " ++	7-8 Min. + 30-35 " ++ 60 " ++	9-10 Min. + 40-45 " ++ 60 " ++	20-25 Min. + 60 " ++ —	40 Min. + 60 " ++ —

6) Die 1 Sorte ist: Mahndorfer frühe Victoria.

bis plötzlich die Reaktionsintensität unseres 5-Sortenextrakts plus Extrakt der fraglichen Sorte genau der Reaktionsintensität des vollhomologen Extrakts gleichkommt. Sobald dieser Fall eintritt, wissen wir, daß die zuletzt zugesetzte Sorte die fragliche ist.

Aus der vorstehenden Tabelle I ist ersichtlich, wie die Reaktionen sukzessive zunehmen, je mehr sich das Antigen dem vollhomologen nähert und umgekehrt fortgesetzt abnehmen, je weiter es sich vom vollhomologen entfernt. Bemerkt sei hier noch, daß diese Reaktionen im ganzen elfmal wiederholt wurden. In den Zahlenwerten traten zwar geringe, innerhalb der Fehlergrenze befindliche, Verschiebungen ein, doch blieb das Bild im großen und ganzen stets genau das gleiche. Das verwendete Serum war zwar nicht sehr präzipitinreich, zeichnete sich dennoch durch eine außerordentlich hohe Spezifität aus.

Für praktische Zwecke ist noch die Frage von Interesse, wie weit man wohl mit der Extraktvermischung wird gehen können, m. a. W. wie viele Sorten wohl zum Impfen eines einzigen Versuchstieres höchstens verwendet werden können. Experimentell ist diese Frage von mir bisher nicht geprüft worden, doch geht man wohl nicht fehl, anzunehmen, daß selbst bei einem höchstspezifischen Serum kaum mehr als 6—8 Sorten in Frage kommen können. Je größer die Sortenzahl wird, um so mehr müssen sich die Unterschiede in der Reaktionsintensität des vollhomologen Extrakts und des Extrakts mit ausgeschalteter Minussorte verwischen. Es ist also anzunehmen, daß die Höchstgrenze für die Sortenzahl eine sehr beschränkte sein muß.

Im folgenden sei noch ein anderer Versuch besprochen, der sich ebenfalls als praktisch brauchbar erwiesen hat und eine Variation des erstgenannten Experiments darstellt.

Es wurden nämlich 3 Versuchstiere subkutan geimpft mit einem Extraktgemisch:

1. der Mahndorfer frühen Viktoriaerbse,
2. des Square-headweizens von S t r u b e - Schlanstedt.

Von den Sera dieser Kaninchen erwies sich eins als ausreichend spezifisch. Es ergab zweierlei Reaktionsmöglichkeiten. Einmal ließen sich Weizensorten, zum anderen Male Erbsensorten mit diesem einen Serum tadellos untersuchen.

Die erzielten Reaktionen ergeben sich aus den beiden nachfolgenden Tabellen II und III.

Die Zahlenwerte beider Tabellen ergeben deutlich, daß jede der beiden homologen Sorten ihrerseits (S t r u b e s Square-headweizen und die Mahndorfer frühe Viktoriaerbse) bedeutend kräftiger reagierte als sämtliche heterologen, so kräftig, daß schon bei relativ schwacher Serumverdünnung nur noch ausschließlich die beiden homologen Sorten reagierten, die heterologen überhaupt nicht mehr. Nur eine Ausnahme ist vorhanden. S t r u b e s Viktoriaerbse (die letzte Sorte der Tabelle III) reagierte nämlich genau so stark, wie die homologe Mahndorfer Viktoria. Das hat indessen seinen guten Grund darin, daß beide Sorten biologisch identisch sind. Die eine ist durch Auslese aus der anderen entstanden, folglich serologisch nicht von ihr trennbar.

Nach den bisherigen recht ermutigenden Resultaten geht man wohl nicht fehl mit der Annahme, daß die Antigen-Mischmethode für die praktische Durchführbarkeit von serologischen Massenversuchen, wie die Sortenversuche es sind, und vielleicht auch von Versuchen anderer Art beachtenswert ist. Besonders soweit es sich darum handelt, Serum vieler verschiedener Arten oder Gattungen zu erlangen, kann man analog den Sortenversuchen sicher die Extrakte einer ganzen Reihe von Arten bzw. Gattungen miteinander vermischen.

Tabelle II.
Weizenreaktionen¹⁾.

Präzipitierende eiweißhaltige Lösung von:									
Mischserum von Strubes Square head- Weizen u. Mahndorfer Victoria- Erbsen	Strubes Square head- weizen (homolog)	Eppweizen	Krafts Siegerländer Weizen	Böhmischer Wechsel- Weizen	Roter Schlanstedter Sommer- weizen	„Crieuener 104“- Weizen	Modrows Preußen- weizen	Heines Teverson- weizen	Bülling- häuser Urtoba- weizen
Verdünnung: 1 : 3	Min. 1 + 2-3 ++ 6 ++	Min. 1 + 4 ++ 9 ++	Min. 1 + 4 ++ 8-9 ++	Min. 1 + 4 ++ 9 ++	Min. 1 + 4 ++ 8-9 ++	Min. 1 + 4 ++ 9 ++	Min. 1 + 4 ++ 9-10 ++	Min. 1 + 4 ++ 9 ++	Min. 1 + 4 ++ 9 ++
Verdünnung: 1 : 4,5	Min. 2-3 + 7 ++ 14 ++	Min. 5 + 20 ++ 40 ++	Min. 4-5 + 17-20 ++ 35-40 ++	Min. 4-5 + 18-20 ++ 35-40 ++	Min. 5 + 20 ++ 40 ++	Min. 4-5 + 19-20 ++ 40 ++	Min. 4-5 + 20 ++ 40 ++	Min. 5 + 18-20 ++ 35-40 ++	Min. 4-5 + 18-20 ++ 35-40 ++
Verdünnung: 1 : 6,0	Min. 3-4 + 10 ++ 19 ++	Min. 8-10 + 25-30 ++ 60 ++	Min. 9 + 25-30 ++ 60 ++	Min. 9 + 25-30 ++ 60 ++	Min. 8-9 + 25-30 ++ 60 ++	Min. 7-9 + 25-30 ++ 60 ++	Min. 7-9 + 25-30 ++ 60 ++	Min. 7-9 + 25-30 ++ 60 ++	Min. 7-9 + 25-30 ++ 60 ++

¹⁾ Mit Rücksicht auf den größeren Eiweißreichtum der Erbsensamen im Vergleich zu den Weizenkörnern erhielt das Mischserum mehr Erbsen- als Weizenpräzipitate. Dementsprechend waren die Verdünnungen für die Erbsenreaktion größer (bis 1 : 10,0) als für die Weizenreaktionen (bis 1 : 6,0).

Tabelle III.
Erbsenreaktionen.¹⁾

Mischserum von Strubes Square head - Weizen und Mahndorfer Victoria - Erbse	Präzipitierende eiweißhaltige Lösung von:					
	Mahndorfer Victoriaerbse (homolog)	Chrestensens halbhohe Erbse	Kleine weiße westpreussische Erbse	Svalöfs Concordia Erbse	Mansholts groene Erbse	Strubes Victoriaerbse
Verdünnung 1 : 5	½ Min. +	½-1 Min. +	1 Min. +	1 Min. +	1 Min. +	½ Min. +
	2 " +	3 " +	3 " +	3 " +	3-4 " +	2 " +
	4 " +	5 " +	5-6 " +	5 " +	5-6 " +	3-4 " +
Verdünnung 1 : 8,5	2-3 Min. +	4-5 Min. +	5 Min. +	4-5 Min. +	5 Min. +	2-3 Min. +
	5-6 " +	12-13 " +	12 " +	11-12 " +	12-13 " +	6 " +
	13 " +	29 " +	28 " +	26-28 " +	30 " +	13 " +
Verdünnung 1 : 10,0	4 Min. +	7-8 Min. +	8 Min. +	7-8 Min. +	8 Min. +	4 Min. +
	10 " +	35 " +	34-40 " +	35-38 " +	35-38 " +	9-10 " +
	18 " +	60 " +	60 " +	60 " +	60 " +	17-19 " +

¹⁾ Mit Rücksicht auf den größeren Eiweißreichtum der Erbsensamen im Vergleich zu den Weizenkörnern enthielt das Mischserum mehr Erbsen- als Weizenpräzipitate. Dementsprechend waren die Verdünnungen für die Erbsenreaktionen größer (bis 1 : 10,0) als für die Weizenreaktionen (bis 1 : 6,0).

Es ist sogar vorauszusagen, daß man um so mehr Formenkreise auf dem Wege der Extraktmischung miteinander vereinigen kann, je weiter der Verwandtschaftsgrad der betreffenden ist, eine Maßnahme, die ganz besonders für botanisch-systematische Fragen in die Praxis umzusetzen sein wird.

Neue Literatur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. OTTO HAMANN,

Oberbibliothekar der Kgl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines, Lehrbücher usw.

Meirowsky, E., Studien über die Fortpflanzung von Bakterien, Spirillen und Spirochäten. Berlin (Springer) 1914. VII, 95 p. 8°. 19 Taf. u. 1 Fig. 12 M.

Untersuchungsmethoden, Instrumente usw.

Beintker, Über Trockennährböden nach Prof. Doerr. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 74. 1914. H. 5/6. p. 499—505.)

Berliner, Ernst u. Müller, H. C., Über die Züchtung des Rüben nematoden. (Biol. Centralbl. 1914. H. 6. p. 349—356. Mit 1

Besredka, A. et Jupille, F., La gélose à l'oeuf. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année 28. 1914. No. 6. p. 576—578.)

Buchanan, R. M., An insect absorption appliance for the test-tube culture of anaerobes. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 74. 1914. H. 5/6 p. 526—527. 1 Fig.)

Galli-Valerio, B. u. Schiffmann, S., Die praktische Anwendung von Doerr's Trockennährböden. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 74. 1914. H. 7. p. 653—654.)

Hesse, Erich, Eine neue Druckpumpe für den Bakteriennachweis mit dem Berkeley-Filter. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 74. 1914. H. 5/6. p. 515—518. 2 Fig.)

Neumeyer, Georg, Beitrag zur Beurteilung des Reinigungseffekts von biologischen Hauskläranlagen. (Gesundheits-Ingenieur. Jg. 37. 1914. No. 27. p. 517—523.)

Plücker, W., Nachweis und Beurteilung des Bacterium coli in Trinkwasser. (Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. 27. 1914. H. 7. p. 521—543.)

Systematik, Morphologie.

Bagnall, Richard S., A chalcid Parasitic on Thrips [Thysanoptera]. (Rep. 83. Meet. British Assoc. Advanc. sc. p. 531.)

Goodey, T., A preliminary communication on three new Proteomyxan Rhizopods from soil. (Arch. f. Protistenk. Bd. 35. 1914. H. 1. p. 80—102. 4 Taf.)

Biologie.

Bezzasonoff, N., Sur quelques faits relatifs à la formation du périthèce et la délimitation des ascospores chez les Erysiphaceae. (Compt. rend. Acad. Soc. T. 158. 1914. No. 16. p. 1123—1125.)

Chauvigné, Auguste, A propos de l'hivernage de l'Eudémis. (Rev. de viticult. Année 21. 1914. No. 1068. p. 639.)

Désail, P., Notes biologiques sur la larve de Tipula oleracea à propos de ses ravages dans les prés de l'Avesnois, au printemps 1914. (Compt. rend. Soc. biol. T. 77. 1914. No. 21. p. 126—127.)

Franzen, Hartwig, Beiträge zur Biochemie der Mikroorganismen. 9. Mitt. Über den Nährwert verschiedener Zuckerarten und Aminosäuren für Bacillus prodigiosus. (Hoppe-Seyler's Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 90. 1914. H. 4. p. 311—354.)

Haasmann, Theo R., Koloniale alkoholische Gärungserzeugnisse. (Zeitschr. f. Spiritusind. Jg. 37. 1914. p. 361—362, 374.)

- Haase-Bessell, Gertraud**, Zur Erikssonschen Mykoplasmatheorie. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. Bd. 32. 1914. H. 6. p. 393—403. 1 Taf.)
- Harden, Arthur**, La fermentation alcoolique. Paris (Hermann et fils) 1913. 163 p. 8°.
- Lüstner, G.**, Werden die Raupen des einbindigen Traubenwicklers (*Conchylis ambiguella* Hub.) von den Marien- oder Herrgottskäfern (*Coccinelliden*) gefressen? (Zeitschr. f. Weinbau u. Weinbehandl. 1914. No. 2. p. 65—69.)
- Matruchot, Louis**, Variations culturelles progressives du Champignon basidiomycète charnu [*Tricholoma nudum*]. (Compt. rend. Acad. Sc. T. 158. 1914. No. 10. p. 724—726.)
- Neuberg, C. u. Rosenthal, P.**, Über zuckertreie Hefegärungen. 14., 15. Fortgesetzte Untersuchungen über die Carboxylase. (Biochem. Zeitschr. Bd. 61. 1914. H. 1/2. p. 171—183—186.)
- Schönfeld, F.**, Die Mineralbestandteile der Hefe und ihre Bedeutung für den Lebenszustand derselben. (Wochenschr. f. Brauerei. Jg. 31. 1914. No. 26. p. 245—247.)
- Tamura, Sakae**, Zur Chemie der Bakterien. 5. Mitt. Über die chemische Zusammensetzung eines Wasserbacillus. (Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 90. 1914. H. 3. p. 286—290.)
- Thomas, Pierre et Moran, Robert C.**, Sur les substances protéiques de l'*Aspergillus niger*. (Compt. rend. Acad. Sc. T. 159. 1914. No. 1. p. 125—127.)
- Thurn, Otto**, Über die Lebensfähigkeit an Objektträgern angetrockneter ungefärbter und gefärbter Bakterien. [Diss. med.] Gießen 1914. 8°.
- Zikes, Heinrich**, Über den Einfluß des Lichtes auf Bakterien- und Hefevermehrung. (Allg. Zeitschr. f. Bierbr. u. Malzfabrik. Jg. 42. 1914. No. 38. p. 401—402.)
- Zweigelt, Fritz**, Die Maikäfer in der Bukowina und die äußeren Bedingungen für ihre Verbreitung in Mitteleuropa. (Naturwiss. Zeitschr. f. Forst- u. Landw. 1914. Nr. 6. p. 265—292; Nr. 7. p. 329—344.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft, Wasser, Boden.

- Calderini, A.**, Action du sel sur le contenu en bactéries des échantillons d'eau destinés à l'analyse bactériologique. (Rev. d'hyg. et de police sanit. T. 36. 1914. No. 5. p. 502—509.)
- Schubert**, Die Ozonisierung des Wassers in hygienischer und wirtschaftlicher Bedeutung. (Zeitschr. f. Med.-Beamte. Jg. 27. 1914. No. 13. p. 489—503.)

Milch, Molkerei.

- Arbeiten, Die, aus dem Gebiete der Milchwirtschaft und Molkereipraxis im Jahre 1913, I. Sem. (Sammelreferat v. R. W. Raudnitz, fortgef. v. W. Grimmer. H. 17. [Aus: „Monatsschr. f. Kinderheilkunde.“] 31 p. gr. 8°. Wien (Deuticke) 1914. 1 M.)
- Bongert**, Die Ausübung der tierärztlichen Kontrolle der Milchviehbestände. (Molkerei-Ztg. Berlin. Jg. 24. 1914. No. 24. p. 273—275.)
- Evans, A. C., Hastings, E. G. and Hart, E. B.**, Bacteria Concerned in the Production of the Characteristic Flavor in Cheese of the Cheddar Type. (Journal of Agric. Research. Washington 1914. Vol. 2. No. 3. p. 167—193.)
- Fritsmann, E.**, Über die Bedeutung des Vorkommens von Nitraten in der Milch und über den Nachweis derselben. (Deutsch. Milchw. Ztg. Bunzlau 1914. No. 43. p. 632—633; Molkerei-Ztg. Hildesheim 1914. No. 35. p. 663.)
- de Gironcourt, G.**, Sur les ferments du lait chez les Touareg. (Compt. rend. Acad. Sc. T. 158. 1914. No. 10. p. 737—740.)
- Hart, E. B., Hastings, E. G. and Evans, A. C.**, Relation of the Action of Certain Bacteria to the Ripening of Cheese of the Cheddar Type. (Journal of Agric. Research. 1914. Vol. 2. No. 3. p. 193—217.)
- Hering**, Über die Bedeutung der Biorisation für Milchwirtschaft und Tierzucht. (Wissensch. Rundschau [Beil. z. „Georgine“, Land- u. Forstw. Ztg.]. 1914. No. 6. p. 21—24.)
- Kooper, W. D.**, Beitrag über die Veränderungen des Käses während der Reifung unter normalen und anormalen Verhältnissen. (Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. 27. 1914. H. 4. p. 322—330.)
- , Hygienische Milchgewinnung. (Molkerei-Ztg. Hildesheim. 1914. No. 42. p. 809—810.)
- Löhnis**, Untersuchungen über das vorzeitige Gerinnen der Milch an Gewittertagen. (Molkerei-Ztg. Hildesheim. 1914. No. 41. p. 785—786.)

- Lührig, H.**, Weitere Beiträge zur Beurteilung der Milch auf Grund der Lichtbrechung des Chlorcalciumserums. (Molkerei-Ztg. Hildesheim. 1914. No. 39. p. 741—743.)
- Molkereiwesen, Das deutsche**, in veterinär-medizinischer Betrachtung. (Deutsche Milchwirtsch. Ztg. 1914. No. 47. p. 690—692.)
- Rogers, L. A. and Dahlberg, A. O.**, The origin of some of the streptococci found in milk. (Journ. of agric. Research. Vol. 1. 1914. No. 6. p. 491—511.)
- Rossmann, A. Ritter v.**, Milchkontrolle und Leistungszucht. (Österr. Molkerei-Ztg. 1914. No. 6. p. 87; No. 7. p. 105; No. 8. p. 121.)
- Teichert, Kurt**, Versuche über die Anwendung gereifter Milch bei der Weichkäse-Herstellung. (Aus d. 3. Jahresber. d. württemberg. Käserei-Vers. u. Lehranstalt i. Wangen; Molkerei-Ztg. Berlin. 1914. No. 23. p. 262.)
- Titus, E. W.**, Cows milk, raw and heated. (Med. Record. Vol. 86. 1914. No. 2. p. 58—61.)
- Weigmann, H.**, Versuche mit dem Biorisator. (Molkerei-Ztg. Hildesheim. Jg. 28. 1914. No. 46. p. 885—886; No. 47. 4 p. 899—901.)
- Wolff, A.**, Was ist Yoghurt und Intestibacter und worin besteht deren Wirkung? (Deutsch. Vierteljahresschr. f. öffentl. Gesundheitspfl. 1913. Bd. 45. H. 4. 2. Hälfte. p. 673—676.)

Bier, Bierbereitung.

- Koolman, K. ten Doornkaat**, Über die freien und gebundenen organischen Säuren in Würze und Bier. (Wochenschr. f. Brauerei. Jg. 31. 1914. No. 30. 31.)
- Koudelka, Viktor**, Über den Einfluß der Salze des Brauwassers auf die chemische Zusammensetzung von Würze und Bier. (Allg. Zeitschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrik. Jg. 42. 1914. No. 24. No. 25, No. 26.)
- Moufang, Ed.**, Ein Beitrag zur Frage des assimilierbaren Eiweißes. (Allg. Zeitschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrik. Jg. 42. 1914. No. 29. p. 317—319.)
- Reitz, Adolf**, Bakteriologische Versuche mit einer hygienischen Schutzkapsel für Bierflaschen- oder ähnliche Flaschenverschlüsse. (Die Hygiene. Jg. 4. 1914. H. 13. p. 248.)
- Rohland, P.**, Das Kolloidtonreinigungsverfahren für die Abwässer der Brauereien usw. (Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. 37. 1914. No. 34. p. 413—417.)
- Schönfeld, F.**, Die Konservierung von Würze. Ein wirtschaftlicher Vorteil für Kleinbrauereien. (Wochenschr. f. Brauerei. Jg. 31. 1914. No. 36. p. 354.)

Inhalt.

Original-Abhandlungen.

- Amato, A.**, Über die Lipide der Blastomyceten, p. 689.
- Dietel, P.**, Versuche über die Keimungsbedingungen der Teleutosporen einiger Uredineen, p. 698.
- Heinricher, E.**, Über besondere Keimungs-

- bedingungen, welche die Samen der Zwerg-Mistel *Arceuthobium Oxycedri* (DC.) M. Bieb. beanspruchen, p. 705.
- Zade, A.**, Die Antigen-Mischmethode, p. 712.

Neue Literatur, p. 718.

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagsbuchhandlung **Gustav Fischer** in Jena einzusenden.

Abgeschlossen am 17. Dezember 1914.

Hofbuchdruckerei Rudolstadt.

Centralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 42. No. 26.

Ausgegeben am 11. Februar 1915.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band 42 enthaltenen Arbeiten.

- Ainslie, G.**, The cowpea curculio. 152
Amato, A., Über die Lipoide der Blastomyceten. Mikrochemische und chemische Untersuchungen. (Orig.) 689
Anderlind, Wahrnehmungen über die Waldverhältnisse in der Gegend von Abbazia in Istrien und über das Verhalten mehrerer Holzarten gegen den Salzgehalt der Luft an den Klippen des Quarneros. 137
Anderson, H. P. s. Greaves, J. E.
Anonym, Hitzzerisse. 141
Arnaoudoff, N., Quelques cas tératologiques chez les mousses. 159
Arnaud, G., Sur les genres Zopfia, Richonia et Caryospora. 111
Arthur, J. C., Uredinales on Carex in North America. 121
Audebert, O., La défense contre l'Altise, la Cochylis et l'Eudemis. 209
Ayers, S., Henry and Johnson, William T., A synthetic medium for the determination of colon bacilli in Icecream. 74
Back, E. A. s. a. Morill, W.
—, Notes on cuban whiteflies with description of two new species. 187
Bainier, G., Mycothèque de l'École de Pharmacie. XXXII. 81
Baker, Sarah M., Note on a new treatment for silver-leaf disease in fruit trees. 206
Bally, W., Die Chytridineen im Lichte der neueren Kernforschung. 112
Banker, H. J., Type studies in the Hydnaceae. IV. The genus Phellodon. 119
Blackman, V. H. and Welsford, E. J., The development of the Perithecium of *Polystigma rubrum* DC. 116
Blakeslee, A. F., Conjugation in the heterogamic Genus *Zygorhynchus*. 82
Blanc, G. R., Revue générale de la famille des Tarsonémides. 214
Barger, Al., *Sesia annellata* L. und *S. empiformis* Esp. 151
Baudys, E., Drei neue durch Apion erzeugte Gallen. (Tri nové hálky Apiony vyvolané.) 169
—, Für Böhmen neue Gallen. (Pro Cechy nové hálky.) 168
Bauer, A., Verzeichnis der Unkräuter des Gouvernements Wladimir. (Spisok sornich rastenij Wladimirskoj gub.) 179
Bayer, E., Gallenbildende Cheomiden der Fichte und der Lärche. 165
Beauverie, J., État actuel de la question de la propagation des Rouilles. 117
—, L'hypothèse du mycoplasma et les corpuscules métachromatiques. 118
Beckhold, H., Die Kolloide in Biologie und Medizin. 82
Beckwith, T. D. and Vass, A. F., A possible improvement in the technique of determination of the ammonifying power of soils. 69
Bericht der Karstaufforstungskommission für die gefürstete Grafschaft Görz und Gradiska über ihre Tätigkeit für das Jahr 1911. 137
Berlese, A., Come progredisce la *Prospaltella Berlesei* in Italia. 211
Bernard, Noël, Sur la fonction fungicide des bulbes d'Ophrydées. 172
Bersa, von, Über Karstaufforstungen in Krain und Küstenland. 137
Bertrand, G., Sur le rôle capital du mangane dans la formation des conidies de *l'Aspergillus niger*. 80
Betten, R., Der Zweigabstecher. 205
Betts, A. D., Bee-hive fungus, *Pericystis alvei* gen. et sp. nov. 95
—, The fungi of the Bee-hive. 95
Bezssonoff, N., Notice sur le développement des conidiophores et sur les phénomènes nucléaires qui l'accompagnent chez le „*Sphaerotheca mors uvae*“ et le „*Microsphaera astragali*“ (s. *Erysiphe astr.*) DC. Trev. 132
Bier, A., Ein blutlausähnlicher Schädling unserer Topfpflanzen. 185
Binder, W., Wichtige Fragen des Obstbaues. 204
Boldyrev, B. Th., Tachycines asynamorus und *Periplaneta australasiae* in den Warmhäusern von Moskau. (Tach. asy. a *Peripl. aust.* Fbr. v oranzejach Moskoj.) 186
Bondarzew, A. S., Verzeichnis der von A. A. Elenkin und B. P. Sawitsch auf Waldbäumen an der Küste des Schwarzen Meeres im Sommer 1912 gesammelten Pilze. 139
Borggardt, A. J., Über die Kernverhältnisse bei *Uredo alpestris*. 118
Borggreve, Über einen Maserkropf. 161

- Bornmüller, J.**, Mitteilungen aus der heimischen Flora. 159
- Borthwick, A. W. and Wilson, M.**, A new larch disease in Scotland. 143
- Bosley s. Thomas, J.**
- Boyd, D. A.**, Mycological notes. 135
- Braid, J. B.**, The sweet chestnut as a timber tree. 142
- Brancher, R. W. s. Quaintance, A. L.**
- Breed, Robert S. and Brew, James D.**, The usefulness of dried stained smears of milk as a means of deterring the sanitary quality of milk. 71
- Brenckle, J. F.**, Fungi dakotenses. 108
- Breslauer, A.**, A propos du dimorphisme sexuel des Mucorinées. 80
- Bretschneider, A.**, Die falschen Mehltau-pilze (Peronosporaceae) und ihre Bekämpfung. 199
- Brew, James D. s. Breed, Robert S.**
- Brick, C.**, Einige Schutzvorrichtungen tropischer Farne gegen Vertrocknung. 177
- Briosi, Giovanni**, Rassegna crittogamica dell' anno 1908 con notizie sulle malattie dell' erba medica causate da parasité vegetali. 102
- , Rassegna crittogamica per il secondo semestre dell' anno 1907. 101
- Brooks, F. T.**, „Silver-leaf“ disease. 130
- Brown, H. B.**, Studies in the development of Xylaria. 112
- Brown, P. E.**, Bacterial activities and crop production. 65
- and **Kellogg, E. H.**, Sulfofication in soils. 67
- Bubák, Franz**, Die Pilze Böhmens. T. II. Hemibasidii. [Houby Česk. Díl II. Sněti (Hemibasidii.) 99
- , Ein Beitrag zur Pilzflora von Sachsen. 99
- Buchner, P.**, Zur Kenntnis der Aleurodes-Symbionten. 183
- Burgess, Paul S. s. Lipman, Charles B.**
- Burill, A. C.**, Economic and biologic notes on the giant midge, Chironomus (Tendipes) plumosus Meigen. 212
- Burnat, J. s. Jaccard, P.**
- Buromsky, Iw.**, Über den Einfluß der organischen Säuren auf die Hefe. (Orig.) 530
- Buscalioni, Luigi e Muscatello, Giuseppe**, Contribuzione allo studio delle lesioni fogliari. 161
- Butler, E. J.**, On allomyces, a new aquatic fungus. 91
- Cannon, W. A.**, Structural relations in Xenoparasitism. 176
- Catoni, Giulio**, Parasiti dell' Anthonomus pomorum (L.), osservato in Valle di Non (Trentino). 215
- Cauda, A., und Sangiorgi, G.**, Untersuchungen über die Mikrofauna der Böden aus Reisgegenden. (Orig.) 393
- Cavara, F.**, Bacteriosi del Giaggiolo. (Iris pallida Lam.) Nota preliminare. 149
- Celakovský, Lad. Fr.**, Weitere Beiträge zur Fortpflanzungsphysiologie der Pilze. 78
- Chaine, J.**, Traitement des Buis contre le Monarthropalpus buxi Lab. 211
- Chalon, J.**, Anomalie chez l'Araucaria excelsa. 159
- Chevalier, H.**, Agaricus melleus. 113
- Chittenden, F. H.**, A little known cutworm. 147
- Chittenden, F. J.**, Bulbs destroyed by grubs. 148
- , The broad-bean weevill. 146
- , The cowpea weevill. 152
- Cholodkovsky, N.**, Sur quelques insectes exotiques. 169
- Clark, J. J.**, Abnormal flowers of Amelanchier spicata. 160
- Clements, F. E.**, Nova Fungorum coloradensium genera. 108
- Coban, R.**, Altri cecidii della Valle del Brenta. 170
- Conn, J. Joel**, A new medium for the quantitative Determination of bacteria in soil. 66
- , Bacteria of frozen soil. (Orig.) 510
- Cruchet, D., Mayor, E. et Cruchet P.**, Contribution à l'étude de la flore cryptogamique du canton du Valais. 104
- Cunningham, Andrew**, Studies on soil protozoa. II. Some of the activities of protozoa. (Orig.) 8
- Cushman, R. A. s. Dwight, Pierce W.**
- Dahlin, T.**, Über Secale cornutum. 123
- Dallyn, D. A.**, Field organization and laboratory technique canadian section. International joint commission pollution investigation 1913. 72
- Darnell-Smith, G. P.**, On the mode of dispersal of irish blight. 156
- Denkschrift, Fünfunddreißigste**, betreffend die Bekämpfung der Reblauskrankheit 1912 und 1913, soweit bis Ende 1913 Material dazu vorgelegen hat (die amtlichen Erlasse bis einschließlich 1. April 1914). 574
- Derick, Carrie M.**, The influence of the hypochloride treatment of water upon the development of Algae. 73
- Dewitz, J.**, Die Bedeutung der Physiologie für die Schädlingsforschung. 96
- Diels, L.**, Der Formbildungsprozeß bei der Blütencecidie von Lonicera, Untergatt. Periclymenum. 165
- Dietel, P.**, Versuche über die Keimungsbedingungen der Teleutosporen einiger Uredineen. III. (Orig.) 698
- Dixon, H. N.**, Abnormality of moss capsule. 159
- Doß, B.**, Entstehung der ökonomisch wichtigsten Schwefelkieslagerstätten. 92

- Dowson, W. J.**, Über das Mycel des *Aecidium leucospermum* und der *Puccinia fusca*. 150
- Dudtschenko, J. S.**, Ein im alkalischen Gelatinemedium Purpurfärbung hervorrunder *Micrococcus*. (Orig.) 529
- Dümmer, R. A.**, A bisexual „gymnospermous“ *Begonia*. 157
- Dwight, Pierce W., Cushman, A. and Hood, C. E.**, The insect enemies of the cotton boll weevil. 125
- Edgerton, C. W.**, The melanconiales. 119
- Eggers, H.**, Die Verbreitung von *Pityogenes austriacus* Wachtl und *elongatus* Löw. 142
- Elofson, A.**, Bericht über die Tätigkeit der Ultuna-Filiale des schwedischen Saatzuchtvereines im Jahre 1910. [Redogörelse för verksamheten vid Sveriges Utsädesförenings Ultunafilial år 1910.] 121
- , Bericht über die Tätigkeit der Ultuna-Filiale des schwedischen Saatzuchtvereines im Jahre 1911. [Redogörelse för verksamheten vid Sveriges Utsädesförenings Ultunafilial år 1911.] 204
- Eriksson, Jacob**, Études sur la maladie produite par la *Rhizoctone violacée*. 154
- Essig, E. O.**, Aphidae of southern California. IX. 184
- , Aphidae of southern California. X. 184
- , Host index to California plant lice. II. (Aphidae.) 185
- , The natural enemies of the citrus mealy bug. 206
- Euler**, Zur Kenntnis der Zellulose. 93
- Evans, Alice C. and Hastings, E. G.**, A study of the bacteria concerned in the production of the characteristic flavor in cheese of the cheddar type. 74
- Ewert, R.**, Verschiedene Überwinterung der Monilien des Kern- und Steinobstes und ihre biologische Bedeutung. 126
- Fahringer**, Zur Frage der Ernährungsweise von *Phosphuga atrata* L. 154
- Fairman, C. E.**, Notes on new species of fungi from various localities. 96
- Falck, R.**, Über die Erkennung und Unterscheidung des echten Hausschwammes. 94
- Familler, Jg.**, Moosgallen aus Bayern. 168
- Famincyn, A.**, Zur Erforschung der Wirkung von *Tilletia tritici* und *Ustilago maydis* auf den Menschen und die Haustiere. 123
- Felt, E. P.**, *Diathronomyia californica* n. sp. (Diptera, Itonidae). 166
- , The gall midge fauna of Western North America. 166
- Ferdinandsen, C. u. Winge, O.**, Studien über einen bis jetzt unbeachteten gemeinen dänischen Discomyceten. [Studier over en hidtil upaaagtet, almindelig dansk Bøgersvamp, *Sclerotinia scirpicola* Rehm.] 120
- , Über *Myrioconium scirpi*. 120
- Fet, Johnston s. Russel, H.**
- Feucht**, Nochmals die gefeldertrindige Buche. 160
- Feytaud, J.**, La Punaise bleue. 211
- Fischer, Ed.**, Eine neue Pilzeinschleppung in der Schweiz. 132
- Forcart, M. K.**, Larosan als Ersatz für Eiweißmilch. 89
- Formánek, R.**, Eine neue *Torneuma* aus Dalmatien. 132
- Fraser, W. P.**, Further cultures of heteroecious rusts. 117
- Frémy, P.**, Sur une fascie de *Carlina vulgaris* L. 157
- Freyhold, von**, Zur gründlichen Vertilgung der Wollaus an Topfgewächsen. 214
- Friederichs**, Beobachtungen über *Phosphuga atrata* L., ihre Nahrung und die einiger anderer Silphini. 154
- Fron, G.**, Note sur quelques Mucédinées observées sur *Cochylis ambiguella*. 209
- , Sur une Mucédinée de la *Cochylis* (de la Vigne). 210
- Fulmek, Leop.**, Über *Anisoplia austriaca* F. 122
- Fuschini, C.**, Dei mezzi piu idonei per combattere la carie ed il carbone. 203
- , Il solfato ferroso contro la ruggine. 204
- Gaudechon, H. s. Müntz, A.**
- Gayon, U. et Lafforgue, G.**, L'Altise. Rapport sur les travaux de la Commission de la Gironde pour l'année 1911. 210
- Gehring, Alfred**, Beiträge zur Kenntnis der Physiologie und Verbreitung denitrifizierender Thiosulfat-Bakterien. (Orig.) 402
- Geret, L.**, Heuschreckenplage in Uruguay und ihre Bekämpfung. 215
- Gjaldbæk, J. K. s. Henriques, V.**
- Göttinger**, Mitteilungen über Waldkulturen, über Insekten- und Elementarbeschädigungen der Wälder. 135
- von der Goltz**, Über die Folgen der Dürreperiode 1911. 177
- Van der Goot, P.**, Zur Systematik der Aphiden. 185
- Gorini, Constantino**, Die Ernährung des Milchviehs und die hygienische Produktion der Milch. (Orig.) 582
- , Verbesserte Bereitung von Sauerfutter. (Milchsäureensilage.) (Orig.) 261
- Gossard, H. A.**, Entomological review of the year 1910. 198
- Greaves, J. E. and Anderson, H. P.**, The influence of arsenic upon the nitrogen fixing powers of the soil. (Orig.) 244

- Green, E. Ernest**, Remarks on coccidae collected by Mr. Edward Jacobson of Samarang, Java. 185
- Gröller, Leopold von s. Kossowicz, Alexander.**
- Großmann, Die** Rauchschäden und deren forstliche Bedeutung. 178
- Grosbüsch, J.**, Über eine farblose, stark roten Farbstoff erzeugende *Torula*. (Orig.) 625
- Grosser, Zur** Verwendung der kalifornischen Brühe (Schwefelkalkbrühe). 198
- Großmann, H.**, The occurrence of *Zygorhynchus moelleri* in Michigan. 82
- Grove, W. B.**, Four little known british fungi. 104
- , Mycological notes. 98
- , New or noteworthy fungi. Part. IV. 104
- , *Sphaerella* v. *Mycosphaerella*. 118
- Grüß u. Sorauer**, Studien über den Gummi-
fluß der Kirschen. 130
- Guéguen, F.**, Développement de l'appareil
conidien et synonymie de l'*Hemispora*
stellata Vuillemin. 82
- , Soudure et fasciation chez quelques
Basidiomycètes selon leur mode de grou-
pement. 158
- Del Guercio, G.**, Mezzi chimici e meccanici
per ostacolare la diffusione del fleotri-
pide dell' olivo. 131
- Hager-Mez**, Das Mikroskop und seine An-
wendung. Handbuch der praktischen
Mikroskopie und Anleitung zu mikro-
skopischen Untersuchungen. 193
- Hammar, A. G.**, Life-history studies on
the codling moth in Michigan. 129
- Hanzawa, J. s. a. Löhnis, F.**
- , Über das Welken der Gurkenpflanzen. 147
- Harder, Richard**, Morphologie und Physio-
logie von *Hyalopus laterosporus* nov.
spec. (Orig.) 27
- Hardenberg, C. B.**, The willow tree cater-
pillar (*Angelica tyrrhea* Cr.). A destruc-
tive pest in forest plantations. 143
- Harding, H. A. s. Rahn, Otto.**
- Hartley, C. P.**, Use of soil fungicides to
prevent damping-off of coniferous seed-
lings. 100
- Harper, R. A.**, Nuclear phenomena of
sexual reproduction in fungi. 77
- Hartwich, C.**, Schweizer Mutterkorn vom
Jahre 1911. 122
- Hastings, E. G. s. Evans, Alice C.**
- Hausrath, H.**, Versuche zur Entstehung
der Vertrocknungsschütte. 140
- Heck**, Verhalten erwachsener Fichten gegen
Dürre und Frost. 141
- Hedicke, H.**, Beiträge zur Kenntnis der
Cynipiden (Hym.). T. III. 167
- Hedlund, T.**, Kleemüdigkeit des Bodens.
(Om klöfvertrött jord.) 152
- Hegy, Dezsö**, *Marssonina Kirchneri* Hegyi
n. sp. 147
- Heikertinger, Franz**, *Psylliodes attenuata*
Koch, der Hopfen- oder Hanf-Erdflö-
h. II. T. Morphologie und Bionomie der
Imago. 156
- , Zur Praxis des Käferfanges mit dem
Kätscher. 215
- Heinricher, E.**, Ernährungsphysiologische
Rassen der Mistel. 176
- , Über besondere Keimungsbedingungen,
welche die Samen der Zwerg-Mistel *Ar-
ceuthobium oxycedri* (DC.) M. Bieb. be-
anspruchten. (Orig.) 705
- Heinze, B.**, Über die durch Bakterien her-
vorgerufenen Krankheiten und Schädi-
gungen unserer Kulturpflanzen. 97
- Henriques, V. u. Gjaldbaek, J. K.**, Unter-
suchungen über die Plasteinbildung. 84
- d'Herelle, F.**, Sur une épizootie de nature
bactérienne sévissant sur les sauterelles
au Mexique. 214
- Hergt**, Abnorme Frucht von *Papaver*
rheas. 160
- Herrmann, E.**, Der Hallimasch. 204
- Hesselink van Suchtelen, F. H.**, The en-
vironment of soil organisms. 65
- Hewitt, G. C.**, Legislation in Canada to
prevent the introduction and spread of
insects, pests and diseases destructive
to vegetation with regulations of vege-
tation into Canada. 198
- Hiltner u. Korff**, Neue Vorbeugungs- und
Bekämpfungsmaßnahmen gegen den
amerikanischen Stachelbeermehltau. 206
- Hofer**, Blattkrankheiten an Birnbäumen
und an Pfirsichen. 130
- Hofer, J.**, Notizen zu einer Pilzflora des
Kanton Aargau. 104
- Hoffmann, Fritz**, Zur Biologie der *Cheim-
tobia brumata*. 128
- Holloway, T. E.**, Insects liable to Disse-
mination in shipments of sugar cane. 124
- Hood, C. E. s. Dwight, Pierce W.**
- Horvath, G.**, Die amerikanische Büffel-
zikade in Ungarn. (Az amerikai bivaly-
kabóca Magyarországon.) 128
- Houard**, Les galles des Crucifères de la
Tunisie. 170
- Howard, L. O.**, Die Siebzehnjahr-Zikade. 188
- Hultsch, Max**, Wie überwintern unsere
Obstbaumfeinde und was kann man im
Winter zu ihrer Bekämpfung tun? 205
- Hunter, W. D.**, Two destructive Texas
ants. 188
- , **Pratt, F. C. and Mitchell, J. D.**, The
principal cactus insects of the United
States. 151
- Hyslop, J. A.**, The false wireworms of the
Pacific Northwest. 213
- , The legume pod moth. 207

- Jablonowski, J.**, Beiträge zur Kenntnis der Lebensgeschichte einer für Ungarn neuen Acaridenart. 154
- Jaccard, P. et Burnat, J.**, Sur un cas de Court-noué observé aux environs de Montpellier. 133
- Jacobson, Edw.**, Symbiose zwischen der Raupe von *Hypolycaena erylus* Godart und *Oecophylla smaragdina* Fab. 173
- Jenne, E. L. s. Quaintance, A. L.**
- Illingworth, J. F.**, A study of the biology of the apple maggot (*Rhagoletis pomonella*) together with an investigation of methods of control. 130
- , Cherry fruit flies and how to control them. 129
- Johansson, K. L.**, Über *Merodon equestris*. 187
- Johnson, William T. s. Ayers, S. Henry.**
- Johnston, T. H.**, American maize smut. 124
- , On some fungi found on fruit. 126
- , On some fungi found on potatoes with special reference to *Armillaria mellea*. 156
- Jones, Dan. H.**, Further studies with some *Azotobacter*. 68
- Ivanow, Sergius L.**, Die Eiweißreservestoffe als Ausgangsprodukt des Stoffwechsels in der Pflanze. 84
- Karny, H.**, Gallenbewohnende Thysanopteren aus Java. 162
- , Revision der Gattung *Heliothrips Haliday*. 132
- , Revision der von Serville aufgestellten Thysanopterengenera. 163
- , Über einige afrikanische Thysanopteren. 163
- , Zwei neue Physapoden-Genera. 163
- Kasai, M.**, Contributions to the mycological Flora of Japan. III. On the Japanese species of *Phragmidium*. 107
- Kayser, E.**, Influence des humates sur les microorganismes. 85
- Keißler, K. von**, Über die Gattung *Symphyosira*. 110
- , Über die weiße Heidelbeere. 135
- Kellerman, Karl F.**, Micrococci causing red deterioration of salted codfish. (Orig.) 398
- Kelley, W. P.**, The lime-magnesia ratio: I. The effects of calcium and magnesium carbonates on ammonification. (Orig.) 519
- , The lime-magnesia ratio: II. The effects of calcium and magnesium carbonates on nitrification. (Orig.) 577
- Kellogg, E. H. s. Brown, P. E.**
- Kieffer, J. J.**, Les Cécidomyies du Tamarix 162
- , Neue Gallmücken-Gattungen 162
- , Nouveau démembrement du genre *Clinodiplosis* 166
- Klein, Richard**, Über Nachweis und Vorkommen von Nitraten und Nitriten in Pflanzen. 195
- Kleine, R. s. Störmer, K.**
- Klimesch**, Beiträge zur Kenntnis der Gattung *Trypophloeus* Fairm. (*Glyptoderes* Eichh.). 190
- Knoll, F.**, Über die Abscheidung von Flüssigkeit an und in den Fruchtkörpern verschiedener Hymenomyceten. 118
- Kocsisz, Fritz**, Die chemische Zusammensetzung des Pilzbekämpfungsmittels „Forhin“. 199
- Koegel, Anton**, Zur Yoghurtkontrolle. (Orig.) 449
- Koenen, Otto**, Wirkungen des trockenen Sommers 1911 auf die Pflanzenwelt. 176
- König**, Besonderheiten des ostpreußischen Waldes in bezug auf Standort, Bestockung und forstliches Verhalten einzelner Holzarten. 192
- Kolkwitz, R.**, Die Beziehungen des Kleinklanktons zum Chemismus der Gewässer. 90
- , Zur Lebensgeschichte von *Sphaerotilus natans*. 91
- Kooper, W. D.**, Sind Alkalität und „Peroxidase“ der Milch identische Begriffe? 89
- Korff s. Hiltner.**
- Kossowicz, Alexander u. Gröller, Leopold von**, Rhodanverbindungen (Schwefelcyanverbindungen) als Kohlenstoff-, Stickstoff- und Schwefelquelle für Schimmelpilze, Sproßpilze (Hefen) und Bakterien: I. Mitteilung. Verhalten der Schimmelpilze zu Rhodanverbindungen. I. 77
- Kraule, G. s. Palladin, W.**
- Kraus, C.**, Die gemeine Quecke (*Agropyrum repens* P. B.). 179
- Kraus, X.**, Ein unheimlicher Gartenfeind. 129
- Krausse, A. H.**, Beiträge zur Kenntnis der Insektenfauna Sardinien. 130
- , Heuschrecken auf Sardinien. 188
- Kroemer, K.**, Wege und Ziele des neuen Weinbaues. 207
- Kryž, Ferdinand**, Über die Aufnahme von Vaselineöl durch Balsaminen. 196
- , Über die Wirkung eines graphithaltigen Bodens auf darin keimende und wachsende Pflanzen. 196
- Krzemecki, A.**, Über Jod- und Bromwirkung auf Proteinkörper. 195
- Küster, Ernst**, Über organoide Mißbildungen an Pflanzen. 158
- Kufferath, H.**, Action de la gélatine à diverses concentrations sur les Bactéries et les levures. (Orig.) 557
- Kuppke**, Vertilgung der Maulwurfsgrille oder Werre in den Saatkämpen. 215
- Kurdjumov, N. V.**, Hyménoptères parasites nouveaux ou peu connus. 213

- Kusano, S.**, *Gastrodia elata* and its symbiotic association with *Armillaria mellea*. 173
 —, On the Chloranth of *Prunus mume*, caused by *Caeoma makinoi*. 160
Kuwana, S. J., The white-flies of Japan. 128
- Lafforgue, G. s. a. Gayon, U.**
 —, *Le Botrytis cinerea*. 134
Lagerberg, T., Über eine Bildungsabweichung interessanter Art der Fichte. (En interessant bilningsafvikelse hos gran.) 141
Lång, Gösta, *Polyporus annosus* Fr. i Finland. 142
Laubert, R., *Tuberculina maxima* Rostr. 142
Lehmann, K. B., Die neuesten Arbeiten über Bestimmung, Konservierungskraft und Zulässigkeit der Benzoësäure. 197
Lemcke, Alfred, Unsere Pflanzenschädlinge im Monat Mai. Zur Beachtung für die Sammler der Pflanzenschutzorganisation in Ostpreußen. 100
Lengerken, H. von, Beitrag zur Lebensgewohnheit von *Otiorhynchus rotundatus* Siebold. 149
Lettau, G., Beiträge zur Lichenenflora von Ost- und Westpreußen. 110
 —, Beiträge zur Lichenographie von Thüringen. 110
Lindau, G., Eine neue *Belonium*-Art aus Neu-Guinea. 110
Lipman, Chas. B., Antagonism between salts as affecting soil bacteria. 67
 — and **Burgess, Paul S.**, Antagonism between anions as affecting soil bacteria. III. Nitrogen fixation. (Orig.) 502
Lloyd, C. G., Mycological notes. 98
Löhnis, F. u. Hanzawa, J., Die Stellung von *Azotobacter* im System. (Orig.) 1
Lombardi, D., Alcune osservazioni morfologiche e biologiche intorno alle *Forda formicaria* Heyden. 181
Lotrionte, G., La semina profonda e l'Orobanche della fava. 175
Ludwig, Bericht über *Bruchus scutellaris*. 124
Lüderwaldt, H., Zur Biologie von *Stenomoma dissimilis* Kearfott. Fam. Tineidae (Kearfott det 1911). 139
Lüstner, G., Über von einem Käfer hervorgerufene Schälwunden an Obstbaumtrieben. 128
- MacCubbin, W. A.**, Photographing leaf spots. 576
MacDougall, Stewart R., Mustart beetles. 215
Magnus, P., Die Verbreitung der *Puccinia geranii* Lev. in geographisch-biologischen Rassen. 151
- Magnus, P.**, Zur Kenntnis der parasitischen Pilze Siebenbürgens. 101
 —, Zur Pilzflora Syriens. J. *Bornmüller*, 1. *Syriacum*. II. *Fungi*. 107
Maire, Quelques remarques sur divers Champignons parasites observés en Normandie. 103
Man, J. G. de, Helminthologische Beiträge. I. *Diplogasteroides spengelii* n. gen. n. sp., eine in dem durch *Torula monilioides* Corda verursachten braunen Fluß der gemeinen Roßkastanie lebende Anguillulide. II. Über *Mononchus muscorum* (Duj.) und dessen Vorkommen im schwarzen Pilz-Algenfluß der Buche, *Fagus sylvatica* L. III. Zur Kenntnis der Gattung *Dorylaimus* Duj. 186
 —, *Odontopharynx longicauda* n. g. n. sp. Eine neue Form von Anguilluliden. 148
Marsh, H. O., The imported cabbage webworm. 207
Martelli, G., *Le Pieris brassicae* e *P. rapae* parassite del *Capparis rupestris*. 146
 —, *Myopites limbardae* Schin. 162
 —, Primo contributo alla biologia del *Phytonomus variabilis*. 153
Martin, Ch. Ed., Les quatre *Cordyceps* de la flore mycologique suisse. 111
Martin, Fr., Contre le court-noué. 209
Martini, W., *Grapholitha* Heim (*Laspeyresia* Meyr.) *oxytropidis*, eine neue Wicklerart aus Thüringen. 150
 —, Raupe und Mine der *Elachista subocellea*. 191
Masoni, G., Saggio su l'azione del solfato di manganese in rapporto alla vegetazione. 161
Massee, G., A new paint-destroying fungus. (*Phoma pigmentivora* Mass.) 93
 —, *Fungi exotici* XII. 114
Mayor, E. s. Cruchet, D.
Meisenheimer, J., Die Weinbergschnecke *Helix pomatia* L. 193
Mell, R., Bausteine zur Kenntnis der Fauna Südchinas. 180
Mercer, W. B., On the morphology and development of *Phoma richardiae* n. sp. 148
Merker, Untersuchungen über zwei neue Zellulose vergärende Bakterien. 93
Michotte, F., L'agave. Culture et exploitation. 85
Miehe, Hugo, Javanische Studien. II. Untersuchungen über die javanische *Myrmecodia*. 172
 —, Javanische Studien. V. Die Bakterienknoten an den Blatträndern der *Ardisia crispa* A. DC. 170
Mitchell, J. D. s. Hunter, W. D.
Mitterberger, K., Die Arten der Gattung *Argyresthia* Hb. (Mikrolepidoptere) um Steyr in Ob-Österreich und im angrenzenden Teile von Steiermark. 191

- Miyake, J.**, Studien über die Pilze der Reispflanze in Japan. 124
- Möbius, M.**, Über *Merulius sclerotiorum*. 94
- Moess, Gustav**, Über den Mehltau. (A lizstharomat.) 116
- , Über *Marssonina Kirchneri* Hegyi n. sp. (A *Marssonina Kirchneri* Hegyi gom-báról.) 117
- Montemartini, L.**, Una nuova malattia della Sulla: *Anthostomella sullae* n. sp. 150
- Moore, W.**, Green peach Aphis (*Myzus persicae*) and its control. 131
- , Notes on the life history of several species of Aphides. 214
- Moreau, F.**, Sur la reproduction sexuée de *Zygorhynchus moelleri*. 82
- Moreau, Mme. F.**, Sur l'existence d'une forme écidienne uninucléée. 151
- , Sur une nouvelle espèce d'*Aedocephalum*. 80
- Moreau, M. et Mme. F.**, Les corpuscules métachromatiques et la phagocytose. 77
- Morill, W. and Back, E. A.**, Natural control of white flies in Florida. 206
- Morstatt, H.**, Über das Vorkommen von Gespinnsten bei Psociden. 144
- Müntz, A. et Gaudechon, H.**, Le reveil de terre. 92
- Murrill, W. A.**, The agaricaceae of the pacific coast. IV. New species of *Clitocybe* and *Melanoleuca*. 114
- , The amanitas of eastern north America. 119
- Muscatello, Giuseppe s. Buscalioni, Luigi.**
- Nadson, G. A.**, Mikrobiologische Studien. (Mikrobiologičeskje očerki.) 76
- Naegeli, O.**, Über zürcherische Ophrysarten. 157
- Naumow, N.**, Matériaux pour la flore mycologique de la Russie. 106
- , Sur une nouvelle espèce de *Pyrénomycète*: *Pleospora catumensis* nov. sp. 131
- Naumann, G.**, Gibt es ein Mittel zur Bekämpfung der Kropfkrankheit? 207
- Neger, F. W.**, Zur Frage der systematischen Stellung der sog. Ambrosiapilze. (Orig.) 45
- Némec, B.**, Weitere Untersuchungen über die Regeneration. 161
- Némec, Bohumil**, Zur Kenntnis der niederen Pilze. IV. *Olpidium brasicae* Wor. und zwei *Entophlyctis*-Arten. 145
- Nierenstein, M.**, Contributions to the chemistry of cheddar cheese. 90
- Nomura, H.**, Intorno alla ruggine del rene-gio (*Astragalus sinicus* L.) e a due nuovi micromiceti patogeni del gelso. 132
- Northup, Zae**, A bacterial disease of the larvae of the june beetle? *Lachnosterna* spp. 69
- Norton, J. B. S.**, Jonathan fruit spot. 206
- Ohl, J. A.**, Verzeichnis der von N. P. Trus-sow im Gouvernement Tula gefundenen Gallen. 168
- Okazaki, Keiichiro**, Beiträge zur Affinität eines neuen weißen Fadenpilzes (*Aspergillus okazakii*). (Orig.) 225
- Olsen, Johann s. Sopp, Olaf.**
- Osborn, H.**, Economic importance of *Stictoccephala*. 153
- Oshanin, B.**, Katalog der palaearktischen Hemipteren (Heteroptera, Homoptera-Auchenorrhyncha und Psylloideae). 182
- Osterwalder, A.**, Durch Bakterien verursachte Blüten- und Zweigdürre bei Obst-bäumen. 126
- Owen, Wm. L.**, Investigation of the comparative values of various culture media for the quantitative determination of microorganisms in cane sugar products. (Orig.) 335
- Paczoski, J.**, Der wilde Wein aus Cherson (*Vitis silvestris* Gmel.). 133
- Palladin, W. u. Kraule, G.**, Zur Kenntnis der gegenseitigen Abhängigkeit zwischen Eiweißabbau und Atmung der Pflanzen. I. Über die Wirkung des Sauerstoffs der Luft und die Arbeit des proteolytischen Ferments in abgetöteten Pflanzen. 85
- Pantanelli, E.**, Elektrolytische Bestimmung der biologischen Bodenaufschließung. (Orig.) 439
- , Esperienze su ripianto di vigne americane e sue conseguenze. 208
- , Weitere Untersuchungen über die Mostprotease. (Orig.) 480
- Paoli, Guido**, Nuovi Laboulbenio-miceti parassiti di Acari. 213
- Paque, E.**, L'été de 1911 et le monde des Champignons. 176
- Parrott, P. J.**, Oviposition among tree crickets. 127
- Patonillard, N.**, Quelques champignons du Costa-Rica. 109
- , Quelques champignons du Tonkin. 107
- Peck, Ch. H.**, Report of the state botanist 1911. 108
- Peklo, Jaroslav**, Über symbiotische Bakterien der Aphiden. 174
- Pergande, Theo.**, The life history of the alder blight Aphis. 144
- Petherbridge, F. R. s. Russell, E. J.**
- Petrak, Franz**, Flora Bohemiae et Moraviae exsiccata. Ser. II. Abt. I. Pilze. 101
- Petri, L.**, Formazione e significato fisiologico dei cordoni endocellulari nelle viti affette da arriccamento. 133

- Petritsch, E. F.**, Neuere Bestrebungen auf dem Gebiete der Holzkonservierung. 197
- Petroff, J. P.**, Die Pilze des Moskauer Distriktes. 106
- Pfeiffer, F.**, Ergänzungsbericht zu „Versuche zur Bekämpfung der Rebschädlinge in Hessen im Jahre 1912.“ 209
- Phillips, W. J. and Davis, J. J.**, Studies on a new species of Toxoptera. 185
- Pierantoni, U.**, Larven-Hermaphroditismus von *Jcerya purchasi*. 127
- Pointu, E.**, Les traitements contre le Mildiou. 211
- Politis, J.**, Una nova malattia del mughetto (*Convallaria majalis*) dovuta alla *Botrytis vulgaris*. 148
- Poppe, K.**, Über die Frage der Ubiquität der Paratyphusbazillen in Nahrungsmitteln. 88
- Potebnia, A.**, Beiträge zur Micromycetenflora der Gouv. Kursk und Charkow. (Materiali k micologičeskoe flore Kurskoe i Charkovskoe gub.). 105
- Pratt, F. C. s. Hunter, W. D.**
- Prunet, A.**, Le Black rot. 134
- Pringsheim, Ernst G.**, Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen. I. 193
- Quaintance, A. L., Jenne, E. L., Scott, E. W. and Braucher, R. W.**, The one-spray method in the control of the codling moth and the plum curculio. 205
- , The leaf blister mite. 205
- , The mediterranean fruit fly. 205
- Quinson, du**, Les parasites des végétaux. 174
- Rahn, Otto u. Harding, H. A.**, Die Bemühungen zur einheitlichen Beschreibung der Bakterien in Amerika. (Orig.) 385
- Ramme**, Über die japanische Locustide *Diestrammena marmorata* Br. 188
- Reh**, Schaden durch den Gartenlaubkäfer. 191
- Reiff, William**, Etwas über „Cankerworms“. 128
- Reinberger**, Futterpflanzen der Zygaenen-Raupen. 152
- Reitmair, O.**, Beiträge zur Biologie der Kartoffelpflanze mit besonderer Berücksichtigung der Blattrollkrankheit. 155
- Reuter, E.**, Über das Auftreten von *Ophiobolus* in Finnland. (Ett uppträdande af halmdödaren [*Ophiobolus*] i Finland.) 122
- Richter, A.**, Ohrwurm, Huhn und Getreideungeziefer. 181
- Rogers, L. A.**, A satisfactory platinum needle. 75
- Rossi, R.**, Alcune notizie intorno a due *Cleonini* dannosi alle barbabietole da zucchero nella Campania. 155
- Rostrup, Sofie**, Die Lebensweise der *Hylemyia coarctata* in Dänemark. 121
- Rothke, Max**, *Euparthenos nubilis* Hb. und ihre Entwicklungsgeschichte. 145
- Rudow**, Afterraupen der Blattwespen und ihre Entwicklung. 187
- Russell, E. J. and Petherbridge, F. R.**, Partial sterilisation of soil for glasshouse work. 196
- Russell, H. M.**, The greenhouse Thrips. 212
- , An internal parasite of Thysanoptera. 212
- Russell, H. and Fet, Johnston**, The life history of *Tetrastichus asparagi*. 215
- Sandman, Edgar A. s. Thomas, J.**
- Sangiorgi, G. s. Cauda, A.**
- Sartory, A. et Bainier, G.**, Étude morphologique et biologique d'un champignon nouveau du genre *Gymnoascus*, *Gymnoascus confluens* n. sp. 111
- Sawada, K.**, Hypochnus on cultivated plants in Formosa. 119
- Schaffnit, E.**, Die Herstellung und Vorbereitung des Saatgutes. 202
- Schander, R.**, Neue Studien über die Blattrollkrankheit der Kartoffel. 155
- Scheidter, Franz**, Über Generation und Lebensweise des bunten Erlenrüsslers. 143
- Schellenberg, H.**, Zur Bekämpfung der Milbenkräuselkrankheit. 209
- Schiele, Frd.**, Material zu einer Thysanopteren- (Blasenfuß-) und Collembolen-Fauna Galiziens. 166
- Schirmer, C. u. Schumacher, F.**, Beiträge zur Kenntnis der Rhynchotenfauna Deutschlands. (Hemiptera.) III. 189
- Schmidt, Hugo**, Neue Gallenstandorte und Gallen aus der Gegend von Steinau a. Oder. 167
- , Weitere Nachrichten über die Verbreitung gallenbildender Hymenopteren in der niederschlesischen Ebene. 169
- Schneider-Orelli, O.**, Über Schwammspinner und Goldafter mit besonderer Berücksichtigung nordamerikanischer Bekämpfungsversuche gegen diese Obstbaumschädlinge. 191
- Schotte, Gunnar**, Der nutzholzreichste Waldbestand Schwedens. (Sveriges virkesrikaste skogsbestånd.) 142
- Schroeder, Harold**, On a certain coccus. (Orig.) 240
- Schulow, Ew.**, Versuche mit sterilen Kulturen höherer Pflanzen. 194
- Schumacher, F. s. Schirmer, C.**
- Schuster, Vaclav u. Ulehla, Vladimir**, Studien über Nektarorganismen. 96
- Schwangart, F.**, Gallmilben an Reben, Obstbäumen und Beerensträuchern. 167
- Schwartz, E. T.**, Observations on *Asarum europaeum* and its Mycorrhiza. 173
- Scott, E. W. s. Quaintance, A. L.**

- Serebrianikow s. Tranzschel**
- Shear, C. L. and Wood, A. K.**, Studies of fungous parasites belonging to the genus *Glomerella*. 112
- Simroth, H.**, Bemerkungen über den Einfluß des letzten Sommers. 177
- Smith, C. O.**, Some successful inoculations with the peach crown gall organism and certain observations upon retarded gall formation. 167
- Smith, H. J.**, The Chalcidoid genus *Perilampus* and its relations to the problems of parasite introduction. 212
- Smotlacha, Franz**, Monographische Bearbeitung der Boletineen Böhmens. [Monografie ceskych hub hřibovitych Boletinů.] 120
- Snyder, T. E.**, Insect damage to mine props and methods of preventing the injury. 101
- Sommerstorff, Hermann**, Ein Tier fangen der Pilz. (*Zoophagus insidians* n. gen., n. sp.) 81
- Sopp, Olav (Johann Olsen)**, Untersuchungen über Insekten vertilgende Pilze bei den letzten Kiefernspinner-Epidemien in Norwegen. 101
- Sorauer s. Größ.**
- Spaulding, Perley**, Fungi of clay mines. 94
- , Notes on *Cronartium comptoniae*. 112
- Spegazzini, Carlos**, Contribución al estudio de las Laboulbeniomicetas Argentinas. 116
- Spratt, E. R.**, Some observations of life history of *Anabaena cycadeae*. 173
- Spuler, Zur** Biologie der Heterogynis pennella Hb. 181
- Stadel, O.**, Über einen neuen Pilz, *Cunninghamella Bertholletiae*. 79
- Stäger**, Psychologische Beobachtungen an der Raupe des Pflaumenwicklers (*Carpocapsa funebrana* Fr.). 131
- Standfuß, M.**, Einige Mitteilungen über paläarktische Noctuiden. 192
- Stephens, Edith**, Note on the anatomy of *Striga lutea*. 175
- , The structure and development of the Haustorium of *Striga lutea*. 175
- Stift, A.**, Zur Geschichte des Wurzeltöters oder der Rotfäule (*Rhizoctonia violacea* Tul.). 153
- Störmer, K. u. Kleine, R.**, Die Drahtwürmer. 212
- Strohmeyer**, Dreizehn neue Arten der afrikanischen Platypodiden-Gattung *Periomnatus* Chap. 189
- , Neue Platypodiden aus Deutsch-Ostafrika, Kamerun und Französisch-Kongo. 189
- , Neue Platypodiden aus Ost- und Westafrika, Madagaskar und Peru. 139
- Suchtelen, Hesselink van, F. H.**, The environment of soil organisms. 65
- Sulc, Karl**, Monographia generis *Trioza* foerster. Species regionis palaearcticae. 188
- Sumstine, D. R.**, Studies in North American Hyphomycetes. II. 79
- Sureya, M.**, Sur quelques champignons inférieurs nouveaux ou peu connus. 98
- Sydow, H. u. P.**, Beschreibungen neuer südafrikanischer Pilze. 109
- , Einige neue parasitische Pilze aus Rußland. 106
- , Notes and descriptions of Philippine fungi I. 107
- Sydow, P.**, Uredineae exsiccatae. 118
- Sylvén, N.**, Einige monströse Formen von *Anemone pratense* L. (*Några monstrosa former af Anemone pratense* L.) 159
- Teodoro, G.**, Ricerche sull' emolinfia dei Lecanini. 174
- Thaxter, Roland**, New or critical Laboulbeniales from the Argentine. 115
- , Preliminary descriptions of new species of *Rickia* and *Trenomycetes*. 114
- Thomas, Fr.**, Über die mit Frostwirkung verwechselten Minen von *Orchestes* (*Rhynchaenus*) fagi an *Fagus silvatica*. 143
- Thomas, J., Bosley and Sandman, Edgar A.**, A numerical comparison of the organisms producing gas in lactose bile isolated from the Baltimore city water supplies. 70
- Tidswell, Fr.**, Memorandum on the mode and signs of infection of plants by fungi. 96
- , Notes on some Irish blight problems. 156
- Trågårdh, J.**, Untersuchungen über *Argyresthia conjugella* Zett. (Undersökningar öfver roun bärsmalen [*Argyresthia conjugella* Zett.] år 1910 och 1911.) 129
- Tranzschel et Serebrianikow**, *Mycotheca rossica*. 105
- Traverso, G. B.**, Intorno alla *Sphaerella macularis* degli autori. 144
- Treboux, O.**, Beiträge zur Kenntnis der ostbaltischen Flora. VII. 1. Verzeichnis von parasitischen Pilzen aus dem Kreise Pernau. 106
- Trinchieri, G.**, Nuovi micromiceti di piante ornamentali. 147
- Troili-Petersson, Gerda**, Einzelkultur von langsam wachsenden Bakterienarten, speziell der Propionsäurebakterien. (Orig.) 526
- Turconi, Malusio**, Sopra una nuova specie di *Cylindrosporium* parassita dell' *Ilex furcata* Lindl. 145
- Uehla, Wladimir s. Schuster.**
- Uvarov, B.**, Über die Orthopterenfauna Transkaspens. 180

- Vaclav s. Schuster.**
Vass, A. F. s. Beckwith, T. D.
Vatter, A., *Secale cornutum* 1911. 122
Vimmer, Anton, Ergänzungen zu dem Aufsatze: „Zur Kenntnis von *Phytomyza xylostei* Kltb.“ 181
Vitzthum, Graf Herm., Die Tetranychiden Deutschlands. 183
Voges, E., Über *Monilia-Sklerotien*. 127
—, Über *Ophiobolus herpotrichus* Fries, den „Weizenhalmstötter“, in seiner Nebenfruchtform. (Orig.) 49
Volkart, A., Fungi, Pilze. [In: Pflanzengeographische Monographie des Berninagebietes von E. Rübel.] 105
Vuilemin, P., Répartition de *Gonatobotrytidae* entre les *Conidiosporés* et les *Blastosporés*. 80
—, *Revue annuelle de Mycologie*. 110
Vuillet, A., Les maladies du Ginseng (*Panax quinquefolium* L.). 125

Wagner, Jul., Beiträge zur Kenntnis der Gattung *Amphipsylla* Wagn. (Aphaniptera). 170
Wagner, R. J., Über bakterizide Stoffe in gesunden und kranken Pflanzen. I. Mitteilung: Die gesunde Pflanze. (Orig.) 613
Wanach, Über einige Potsdamer Eichen gallen und Gallwespen. 164
—, Über einige Schädlinge. 145
Waterman, H. J., Über einige Faktoren, welche die Entwicklung von *Penicillium glaucum* beeinflussen. Beitrag zur Kenntnis der Antiseptica und der Narkose. (Orig.) 639
Webb, J. L., A preliminary synopsis of cerambycid larvae. 190
Webster, F. M., The clover mite. 152
Webster, R. L., Spraying with linseed oil wash for the oyster shellscale. 214
Weese, Josef, *Hypocreaceen-Studien*. I. Mitteilung. (Orig.) 587
Wehmer, C., Hausschwammstudien. III. Ansteckungsversuche mit verschiedenen Holzarten durch *Merulius-Mycel*. 95
Wehsarg, O., Das Unkraut im Ackerboden. 178
Weigmann u. Wolff, Weitere bakteriologische Untersuchungen aus der milchwirtschaftlichen Praxis. 85
Weir, J. R., Some observations on *Polyporus berkeleyi*. 143
Welsford, E. J. s. Blackman, V. H.
Whetzel, H. H., Baldwin spot or stippling. 126

Wichgraf, F., Der Kampf gegen Kulturschädlinge in Amerika. 211
Wichmann, Beschreibung der Freßbilder von *Taphrorychus hirtellus* Eichh. 190
Wiebecke, Moderne Anlage von Kiefern und Kiefern Buchenbeständen. 200
Wildeman, E. de, Documents pour l'étude de la géo-botanique congolaise. 109
Wilson, M. s. Borthwick, A. W.
Winge, O. s. Ferdinandsen, C.
Winslow, C. E. A., Notes on the bacteriology of air and its sanitary significance. 71
Wirtgen, F., Zur Flora des Vereinsgebietes. 157
Witte, H., Über die Formenmannigfaltigkeit der wichtigeren Futtergräser. [Omformriekedomer hov våra viktigare vallgräs.] 121
Wojtkiewicz, A., Beiträge zu bakteriologischen Bodenuntersuchungen. (Orig.) 254
Wolf, F. A., The perfect stage of *Actinonema rosae*. 149
Wolff s. Weigmann.
Wood, A. K. s. Shear, C. L.
Wormsbacher, Henry, Die Katokalen der Vereinigten Staaten von Nordamerika. 138
Wüst, Die Gallen und ihre Erzeuger. Über Zuchresultate. 164
—, Studien an *Cecidomyia rosaria* Lw. und *albipennis* Wz. 164

Zade, A., Die Antigen-Mischmethode. (Orig.) 712
Zametzner, Über merkwürdige Verwachsungen an Waldbäumen. 158
Zederbauer, E., Versuche über individuelle Auslese bei Waldbäumen. I. *Pinus silvestris*. 136
Zellner, J., Die Symbiose der Pflanzen als chemisches Problem. 174
—, Zur Chemie der höheren Pilze. V. Über den Maisbrand (*Ustilago maydis* Tulasne). VI. Chemische Beziehungen zwischen höheren parasitischen Pilzen und ihrem Substrate. 123
—, Zur Chemie der höheren Pilze. IX. Über die durch *Exobasidium vaccinii* Woron. auf *Rhododendron ferrugineum* L. erzeugten Gallen. 150
Zweigelt, Fritz, Beiträge zur Kenntnis des Saugphänomens der Blattläuse und der Reaktionen der Pflanzenzellen. Anatomisch-cytologische Studien an Pflanzen und Pflanzenläusen. (Orig.) 265

II. Namen- und Sachverzeichnis.

- Aargau, Pilzflora. 104
Abies balsamea, Infektion mit *Melampsora arctica* von *Salix*. 117
 — —, Übertragung von *Peridermium balsameum* auf *Aspidium thelypteris*. 117
 — —, — — — — *Onoclea struthiopteris*. 117
 — —, Infektion mit *Uredinopsis mirabilis* von *Onoclea sensibilis*. 117
 — —, — — *Uredinopsis phegopteridis* von *Phegopteris*. 117
 — —, — — *Uredinopsis struthiopteridis* von *Onoclea struthiopteris*. 117
 — *pectinata*, Schädigung durch *Aecidium elatinum*. 102
Acanthocladium laxitextum, abnorme Kapselbildung. 159
 Acarinen, Gallenbildung an *Cordia suaveolens*, Vorkommen von *Aneurothrips punctipennis*. 162
Acer s. a. Ahorn.
 —, Schädigung durch *Uncinula aceris*. 103
Acherontia styx, Schädling von *Clerodendron lividum*. 181
 Ackerschnecken, Bekämpfung mit Kalk. 201
Acremonium alternatum, Zugehörigkeit zu *Ophiobolus herpotrichus*. 60
Acrosporium gossypii n. sp., Beschreibung. 80
 — *hyalina*, Konidienform zu *Erysiphe graminis*. 80
Acrostalagmus, Vorkommen auf *Gastropacha pini*. 201
Actinonema rosae, Zugehörigkeit zu *Diplocarpon*. 149
Adimonia capreae, *Zicrona coerulea* natürlicher Feind. 211
Aecidium, einkerniges auf *Euphorbia silvatica*. 151
 — *abundans*, Schädling von *Symphoricarpos occidentalis*. 108
 — *atroalbum*, Vorkommen. 109
 — *elatinum*, Schädling von *Abies pectinata*. 102
 — *leucospermum*, Myzel, Untersuchung. 150
 — —, Schädling von *Anemone nemorosa*. 150
 — *libanoticum* n. sp., Schädling von *Asperula libanotica*. 107
 — *metalasiae* n. sp., Schädling von *Metalasia*. 110
 — *osyridocarpi* n. sp., Schädling von *Osyridocarpus natalensis*. 114
 — *senegionis bupleuroidis*, Vorkommen. 109
Aedocephalum longisporum n. sp., Diagnose. 80
Aegerita webberi, Bekämpfungsversuche gegen Citrus-Mottenschildlaus. 206
Aerisporella rhodophila var. *tiliae* n. sp., Vorkommen in Böhmen. 101
 Äpfel, Stippfleckigkeit. 126
 Afrika, Platypodiden. 139
 —, Reblausbekämpfung. 575
Agaricus iocephalus n. sp., Vorkommen auf dem Boden. 107
 — *melleus*, Bekämpfung. 113
 — —, Schädling von Tannen. 135
 — *microcarpus*, Zugehörigkeit zu *Mycena*. 108
 — *phacomycetes*, Vorkommen. 94
 — *phaeocyclus* n. sp., Vorkommen auf dem Boden. 108
 — *rhopalopodius* n. sp., Vorkommen auf dem Boden. 108
 Agave, Schädigung durch *Tubercularia agaves*. 109
Agrilus hastulifer, *Pteromalus pospelovi* natürlicher Feind. 213
Agrimonia hirsutus, Schädigung durch *Pucciniastrum agrimoniae*. 108
 Ahorn s. a. *Acer*.
 —, Gallenbildung durch *Eriophyes macrohynchus*. 168
 — — *Phyllocoptes gymnaspiis*. 169
 —, Schädigung durch *Prociphilus tessellata*. 144
 Akazie, Schädigung durch *Angelica tyrreha*. 143
 — — *Septobasidium protractum*. 110
Akebia quinata, Schädigung durch *Aleyrodes akebiae*. 128
 — —, Vorkommen von *Diplodia akebiae*. 97
 Alanin, Vorkommen in Cheddarkäse. 90
 Albizzia, Schädigung durch *Tachardia aurantiaca*. 186
Albugo eurotiae n. sp., Vorkommen auf *Eurotia ceratoides*. 105
Alchimilla vulgaris, Schädigung durch *Trioza acutipennis*. 189
Aleuroticus cardini n. sp., Schädling von *Psidium guajavaradii*. 187
Aleyrodes, Symbiose mit Pilzen. 183
 — *akebiae* n. sp., Schädling von *Akebia quinata*. 128
 — *aucubae* n. sp., Schädling von *Aucuba japonica*. 128
 — *camelliae* n. sp., Schädling von *Thea japonica*. 128
 — *citri*, Schädling vom Orangenbaum. 128
 — —, Vorkommen auf Cuba. 187
 — *euryae* n. sp., Schädling von *Eurya ochracea*. 128
 — *floridensis*, Schädling von *Psidium*. 187
 — *giffardi*, Schädling vom Orangenbaum. 128
 — *howardi*, Vorkommen auf Cuba. 187
 — *marlatti*, Schädling vom Orangenbaum. 128
 — *mori*, Schädling von *Psidium*. 187
 — *nubifera*, Vorkommen auf Cuba. 187

- Aleyrodes perseae*, Schädling von Psidium. 187
 — *shizuokensis* n. sp., Schädling von *Oxalis corniculata*. 128
 — *spinosus* n. sp., Vorkommen in Japan. 128
 — *taonabae* n. sp., Schädling von *Taonaba japonica*. 128
 — — — — — vom Weinstock. 128
 — *tokyonis* n. sp., Schädling von *Ilex integra*. 128
 — *trachoides* n. sp., Schädling von *Solanum seaphorthianum*. 187
Aleyrodesarten Japans. 128
 Algen, Entwicklung im Wasser, Wirkung von Calciumhypochlorid. 73
Alhagi camelorum, Schädigung durch *Thi-soecretus dorsatus*. 180
Allium, Aecidenwirt von *Puccinia permixta*. 106
 —, Schädigung durch *Uromyces ambiguus*. 98
Allomyces arbuscula n. gen. et n. sp., Beschreibung. 90
Allorhina nitida, Larve, Schädigung durch *Micrococcus nigrofaciens*. 72
Alnus glutinosa, s. a. Erle.
 — —, Schädigung durch *Phyllactinia suffulta*. 102
 — —, Vorkommen von *Letendreaa eurtioides*. 587
 Aloe, Schutzmittel für Getreide gegen Mäusefraß. 203
 — — — — — Vogelfraß. 203
Alopecurus pratensis, Schädigung durch *Puccinia perplexans*. 121
Alsophila pometaria, Biologie. 128
 — —, Kreuzung mit *Paleacrita vernata*. 128
 — —, Schädling von Obstbäumen. 128
Alternaria, Schädling von Weizen. 102
 — *panax*, Schädling von *Panax quinquefolium*. 125
 — *tenuis*, Vorkommen auf fußkrankem Weizen. 64
Althaea, Schädigung durch *Puccinia malvacearum*. 102
Amanita, Untersuchung der im östlichen Nordamerika vorkommenden. 119
Amaranthus hypochondriacus, Gallenbildung durch *Aphis rumicis*. 170
Amaryllis, Schädigung durch Wollläuse. 214
Amblardiella tamaricum n. gen. et n. sp., Gallenbildung an Tamarix. 166
 Ambrosiagallen, Vorkommen von *Macrophoma*. 46
 Ambrosiapilze, systematische Stellung. 45
 Ameise, Beziehung zu *Forda formicaria*. 182
 Ameisenpilz von *Myrmecodia tuberosa*, Untersuchung. 172
 Amelanchier, Schädigung durch *Argyresthia*. 191
 — *spicata*, abnorme Bildung. 160
 Amerika, Bekämpfung des Schwammspinners mit natürlichen Feinden. 211
 — — — Goldafters mit natürlichen Feinden. 211
 — — — von Blattläusen mit Coccinelliden. 211
 —, einheitliche Beschreibung der Bakterien. 385
 —, Gallmücken der westlichen Staaten. 166
 —, Katokalen. 138
 —, Reblausbekämpfung. 575
 Aminosäuren, Vorkommen in Cheddar-käse. 90
 Ammoniak, Bildung im Boden, Bestimmungsmethode. 69
 — — — — —, Beziehung zur Ertragsfähigkeit. 65
 — — — — —, Wirkung von Calcium und Magnesium. 519
 — — — — — durch Bakterien, Wirkung von Protozoen. 22
Amoeba tenicola, Wirkung der Temperatur. 14
 Amoeben, Gehalt des Bodens in Reisgegenden. 394
 — — — — —, Verhältnis zum Flagellatengehalt. 13
Amorpha canescens, Schädigung durch *Uropyxis amorphae*. 108
Amorphomyces rubescens n. sp., Vorkommen auf Diestota. 115
 — — — — —, — — — Homalota. 115
Amphipsilla kuznetzovi n. sp., Schädling von *Microtus niddendorfi*. 170
 — *sibirica*, Schädling von *Putorius sibirica*. 170
 — *rossica* n. sp., Schädling von *Putorius vulgaris*. 170
 — *shelkovnikovi*, Vorkommen im Kaukasus. 170
Amphispaeria stellata n. sp., Vorkommen auf Bambus. 108
Anabaena, Wirkung von Calciumhypochlorid auf die Entwicklung. 73
 — *cycadeae*, Vergesellschaftung mit *Azotobacter*. 173
 — — — — — *Pseudomonas radicola*. 173
Anabremia n. gen., Untergattung von *Clinodiplosis*. 166
Anaedus, Vorkommen von *Laboulbenia funerea*. 115
Andricus fecundator, Gallenbildung an Eiche. 102. 169
Andropogon furcatus, Schädigung durch *Puccinia pustulata*. 108
Androthrips melastomae, Verbreitung. 163
Anemone nemorosa, Schädigung durch *Aecidium leucospermum*. 150
 — — — — — *Puccinia fusca*. 150
 — *pratense*, abnorme Bildung. 159
Anethum graveolens, Schädigung durch *Marssonina kirchneri*. 147
Aneurothrips punctipennis n. gen. et n. sp.,

- Vorkommen in Acarinengallen an *Cordia suaveolens*. 162
- Angelica tyrrhea*, Schädling von Akazien. 143
- — — Pappeln. 143
- — — *Salix babylonica*. 143
- Anguilluliden, Vorkommen in erkrankten Hyazinthenzwiebeln. 148
- Anisolabis annulipes*, Vorkommen von *Dimeromyces anisolabis*. 115
- Anisoplia austriaca*, Bekämpfung. 122
- — — Schädling von Getreide. 122
- Anobium paniceum*, Symbiose mit Pilzen. 183
- Anona cherimola*, Schädling durch *Glomerella cingulata*. 113
- Anoplischius, Vorkommen von *Stigmatomyces anoplischii*. 115
- Anthicus parvus*, Vorkommen von *Dioicomyces angularis*. 115
- — — *Dioicomyces malleolaris*. 115
- — — *Dioicomyces umbonatus*. 115
- Anthispila rivillei*, Schädling des Weinstocks. 101
- Anthodiplosis* n. gen., Untergattung von *Clinodiplosis*. 166
- Anthonomus pomorum*, natürliche Feinde. 215
- Anthostomella*, Zugehörigkeit von *Myxosporium*. 119
- *constipata* var. *diminuta* n. var., Vorkommen in Rußland. 105
- *sullae* n. sp., Schädling von *Hedysarum coronarium*. 150
- Anthurium hookeri*, Vorkommen von *Macrophoma anthurii*. 148
- Antiavit, Schutzmittel für Getreide gegen Vogelfraß. 203
- Antigen-Mischmethode. 712
- Antigermin, Wert als Holzkonservierungsmittel. 198
- Antimonin, Wert als Holzkonservierungsmittel. 198
- Apanteles hiberniae*, natürlicher Feind von *Hibernia defoliaria*. 213
- *impurus*, natürlicher Feind von *Anthonomus pomorum*. 215
- *pieridis*, *Habrocyrtus microgastris*, natürlicher Feind. 213
- *plutellae*, natürlicher Feind von *Plutella maculipennis*. 213
- — — *Tetrastichus sokolowskii* natürlicher Feind. 213
- Apenes*, Vorkommen von *Laboulbenia australis*. 115
- Apfel, Schädigung durch Formaldehyd. 206
- — — Vorkommen einer *Torula* auf der Schale. 625
- Apfelbaum s. a. *Pirus malus*. 191
- — — Schädigung durch *Argyresthia*. 129
- — — *Argyresthia conjugella*. 129
- — — *Psylla mali*. 129
- — — *Rhagoletis pomonella*. 130
- — — Übertragung von Lindenmistel. 176
- Apfelbaum, Vorkommen von *Fusicladium dendriticum* auf den Blättern. 64
- — — *Phyllosticta pirina* auf den Blättern. 64
- Apfelsäure, Wirkung auf Hefe. 532
- Aphelenchus, Vorkommen in erkrankten Hyazinthenzwiebeln. 148
- Aphiden s. a. Blattläuse.
- — — Gallenbildung an *Carduus defloratus* var. *glaucus*. 170
- — — *Solidago virgaurea*. 170
- — — Symbiose mit Bakterien. 174
- — — Systematik. 185
- — — Kaliforniens. 184
- Aphidius* natürlicher Feind von *Myzus persicae*. 131
- Aphidoletes*, neue Einteilung der Gattung. 162
- Aphis*, Gallenbildung an *Barbarea vulgaris*. 168
- — — *Cirsium canum*. 168
- — — *Leonurus cardiaca*. 168
- *atriplicis*, Gallenbildung an *Chenopodium glaucum*. 167
- *avenae*, Mundwerkzeuge. 271
- — — Verlauf des Stichkanals. 298
- *capsellae*, Verlauf des Stichkanals. 298
- *cardui*, Verlauf des Stichkanals in *Carduus crispus*. 298
- *erysimi*, Gallenbildung an *Erysimum crepidifolium*. 168
- *evonymi*, Verlauf des Stichkanals. 298
- *grossulariae*, Mundwerkzeuge. 271
- — — Verlauf des Stichkanals. 298
- *maydis*, Vorkommen in Californien. 184
- *myosotidis* (?), Gallenbildung an *Eriogon annuus*. 170
- *papaveris*, Verlauf des Stichkanals. 298
- *persicae*, Schädling von *Prunus persica*. 102
- — — *niger*, Bekämpfung mit Tabakseifenbrühe. 214
- *piri*, Schädling von *Pirus communis*. 102
- *rumicis*, Eindringen des Borstenbündels in die Wirtspflanze. 273
- — — (?), Gallenbildung an *Amaranthus hypochondriacus*. 170
- — — Mundwerkzeuge. 271
- *sambuci*, Verlauf des Stichkanals. 298
- *tanacetis*, Verlauf des Stichkanals. 298
- *viburni*, Verlauf des Stichkanals in *Viburnum opulus*. 298
- Apion amethystinum*, Gallenbildung von *Trifolium pratense*. 169
- *minimum*, Gallenbildung an *Salix aurita*. 169
- *seniculum*, Gallenbildung an *Vicia cracca*. 169
- Apium graveolens*, Schädigung durch *Philophylla centaurea*. 103
- — — *Philophylla onopordinis*. 103
- — — *Septoria petroselini* var. *apii*. 102

- Araucaria*, Schädigung durch *Phoma araucariae*. 103.
 — *excelsa*, abnorme Bildung. 159
Arceuthobium oxycedri, Keimungsbedingungen. 705
Archipsocus textor, Gespinste, Vorkommen von *Plenariola morstatti*. 144
Archipsocus textor n. sp., Vorkommen von Spinndrüsen. 144
Ardisia crispa, Bakterienknoten. 170
 — —, Vorkommen von *Bacterium foliicola* in den Samen. 171
 — *humilis*, Schädigung durch *Phyllosticta ardisiae*. 147
Arge pagana s. *Hylotoma pagana*.
Argentiniën, Laboulbeniaceen. 115
Argutor bonariensis, Vorkommen von *Laboulbenia bonariensis*. 115
 — — — — *granulosa*. 115
 — — — — *Laboulbenia lutescens*. 115
 — — — — *Laboulbenia subinflata*. 115
Argyresthia, Schädling von *Amelanchier*. 191
 — — — — Apfelbaum. 191
 — — — — Birke. 191
 — — — — Cornus. 191
 — — — — Eiche. 191
 — — — — Erle. 191
 — — — — Fichte. 191
 — — — — Pinus. 191
 — — — — Sorbus aria. 191
 — — — — Tanne. 191
 — — — — Wacholder. 191
 — — — — Weide. 191
 — — — — Weißdorn. 191
 — *conjugella*, Schädling vom Apfelbaum. 129
 — *laevigatella*, Schädling der Lärche. 143.
Aristolochia clematis, Schädigung durch *Cercospora olivascens* var. *minor*. 105
Armillaria mellea s. a. *Hallimasch*.
 — —, Schädling von Kartoffeln. 156
 — —, — — Morus. 103
 — —, Symbiose mit *Gastrodia elata*. 173
 — —, Verwachsung. 158
 — —, Vorkommen. 94
Arsenpräparate, Bekämpfungsversuche gegen Traubenwickler. 210
Arsenverbindung, Wirkung auf die Stickstoffbindung im Boden. 244
Artemisia absinthium Reaktion auf Blattlausstiche. 307
 — *californica*, Gallenbildung durch *Diarthronomyia californica*. 166
 — *campestris*, Gallenbildung durch *Rhopalomyia tubifex*. 169
 — *vulgaris*, Gallenbildung durch *Eriophyes artemisiae*. 168
Arthraxon ciliare, Schädigung durch *Bremia graminicola*. 106
Asarum europaeum, Mykorrhiza. 173
Aschersonia aleyrodis, Bekämpfungsversuche gegen Citrus-Mottenschildlaus. 206
Aschersonia flavocitrina, Bekämpfungsversuche gegen Citrus-Mottenschildlaus. 206
Asclepias tuberosa, Schädigung durch *Sepatoria asclepiadicola*. 103
Ascobolus demangei n. sp., Vorkommen auf dem Boden. 108
Ascochyta, Vorkommen auf fußkranken Weizen. 64
 — *imperfecta* n. sp., Schädling von *Medicago sativa*. 109
 — *melonis* n. sp., Schädling von *Cucumis melo*. 105
 — *pisi*, Schädling von *Pisum*. 103
 — — — — *Vicia*. 103
 — *sambucella* n. sp., Schädling von *Sambucus racemosa*. 99
 — *zimmermanni* n. sp., Vorkommen in Böhmen. 101
Ascogaster carpocapsae, natürlicher Feind von *Carpocapsa pomonella*. 129
Ascostratum n. gen., Schädling von *Euphorbia*. 110
Asemiden, Zugehörigkeit von *Atimia*. 190
Asparagus, Vorkommen von *Richonia variospora*. 111
 — — — — *Zopfia rhizophila*. 111
 — *officinalis*, Schädigung durch *Fusarium*. 103
 — — — — *Macrosporium*. 103
 — — — — *Platyparaea poeciloptera*. 103
 — — — — *Puccinia asparagi*. 102
Aspergillus clavatus, Fruktifikation, Wirkung der Transpiration. 78
 — *glaucus*, Rhodanverbindungen als Stickstoffquelle. 77
 — —, Schädling von Mais. 102
 — — — — *Nicotiana tabacum*. 103
 — —, Schwefelwasserstoffbildung aus Rhodanverbindungen. 78
 — *niger*, Rhodanverbindungen als Stickstoffquelle. 77
 — —, Schwefelwasserstoffbildung aus Rhodanverbindungen. 78
 — —, Sporenbildung, Bedeutung von Mangan. 80
 — *okazakii*, Fermente, Untersuchung. 236
 — —, Unterschied von *A. albus* und *A. candidus*. 226
Asperula libanotica, Schädigung durch *Aecidium libanoticum*. 107
Aspidiotus nerii, *Hyperaspis lateralis* natürlicher Feind. 206
 — —, *Rhizobius lopanthae* natürlicher Feind. 206
 — —, *Scymnus sordidus* natürlicher Feind. 206
 — —, Schädling von *Nerium oleander*. 103
 — *pentagona*, Gesetz zur Verhütung der Einschleppung nach Kanada. 199
 — *perniciosus*, *Hyperaspis lateralis* natürlicher Feind. 206
 — —, *Rhizobius lopanthae* natürlicher Feind. 206

- Aspidiotus perniciosus*, *Scymnus sordidus*
 natürlicher Feind 206
Aspidium thelypteris, Infektion mit *Peridermium balsameum* von *Abies balsamea*. 117
Asplenium multileneatum. Schutzvorrichtung gegen Vertrocknung. 177
 — *obtusifolium*, Schutzvorrichtung gegen Vertrocknung. 177
Asteroma argentea n. sp., Schädling von *Salix caprea*. 99
Astragalus sinicus, Schädigung durch *Tuberulina nomuriana*. 133
Atimia, Zugehörigkeit zu den *Asemiden*. 190
Atta texana, Bekämpfung mit Cyankali. 188
 — — — Schwefelkohlenstoff. 188
Atteta, Vorkommen von *Dimorphomyces verticalis*. 115
Aucuba japonica, Schädigung durch *Aleyrodes aucubae*. 128
Aulacaspis pentagona, Gesetz zur Verhütung der Einschleppung in Kanada. 199
Aulacidea hieracii, Gallenbildung an *Hieracium porrifolium*. 170
Aulax glechomae, Gallenbildung an *Glechoma hederacea*. 169
 Australien, Reblausbekämpfung. 575
Autoicomyces bicornis n. sp., Vorkommen auf *Berosus*. 116
Autophagomyces nigripes n. gen. et n. sp. Vorkommen auf *Tomoderus forticornis*. 115
 — *platensis* n. gen. et n. sp., Vorkommen auf *Tomoderus forticornis*. 115
Avena elatior, Schädigung durch *Puccinia arrhenateri*. 121
 — *sativa* s. a. Hafer. — — — Schädigung durch *Ustilago avenae* var. *levis*. 108
 — — — *Ustilago levis* in Böhmen. 99
 — — — *Ustilago avenae* in Böhmen. 99
Azotobacter, Auftreten sporenfreier Formen, Wirkung von *Radiobacter*. 7
 —, Involutionsformen. 68
 —, Lebensfähigkeit in künstlicher Kultur. 68
 —, systematische Stellung. 1
 —, Tötungstemperatur verschieden alter Kulturen. 68
 —, Vergesellschaftung mit *Anabaena cylindrica*. 173
 —, Vergleich mit *Bacillus danicus*. 6
 — — — *Bacillus malabarensis*. 6
 — *beijerinckii*, Sporenbildung. 5
 — *chroococcum*, Farbstoffbildung. 6
 — —, Sporenbildung. 4
 — *vinelandii*, Untersuchung. 6
 — *vinelandii*, Zugehörigkeit zu *A. agile*. 7
 — *vitreum*, Untersuchung. 6
Azurin, Bekämpfungsversuche gegen *Oidium*. 209
 — — — *Peronospora*. 209
Bacillus anthracis, Wirkung von Gelatine verschiedener Konzentration. 566
 — *azotobacter*, richtige Bezeichnung für *Azotobacter*. 2
 — *bulgaricus*, Kulturversuche. 456
 — —, Morphologie. 465
 — *coli communis*, Ähnlichkeit mit einem neuen *Coccus*. 240
 — — *commune*, Vorkommen im Darm von *Gastropacha pini*. 201
 — *danicus*, Vergleich mit *Azotobacter*. 6
 — *fluorescens*, Aromabildung mit *B. megatherium* in Milch. 87
 — — — *B. mycoides* in Milch. 87
 — — — *Streptococcus lacticus* in Milch. 87
 — —, Erreger des Mohrrübengeruches von Milch. 86
 — —, Labausscheidung. 87
 — *malabarensis*, Vergleich mit *Azotobacter*. 6
 — *megatherium*, Aromabildung mit *B. fluorescens* in Milch. 87
 — —, Vorkommen in Milch. 87
 — *mesentericus*, Erreger einer Knollenfäule von *Solanum tuberosum*. 613
 — *mycoides*, Aromabildung mit *B. fluorescens* in Milch. 87
 — —, Labausscheidung. 87
 — —, Vorkommen in Milch. 87
 — *subtilis*, Wirkung von Gelatine verschiedener Konzentration. 565
 — *vulgatus*, Infektion von Kartoffelknollen. 615
 — —, Pathogenität, Steigerung durch Kultur bei hoher Temperatur. 615
Bacterium aceti, Wirkung von Brom und Jod. 195
 — *casei*, Vorkommen in Cheddarkäse. 74
 — *coli*, Wirkung von Gelatine verschiedener Konzentration. 564
 — *foliicola* n. sp., Beschreibung. 171
 — —, Vorkommen in Samen von *Ardisia crispa*. 171
 — *fluorescens*, Wirkung von Gelatine verschiedener Konzentration. 562
 — *lactis acidii*, Vorkommen in Cheddarkäse. 74
 — *prodigiosum*, Wirkung von Gelatine verschiedener Konzentration. 560
 — *putidum*, Infektion von Kartoffelknollen. 617
 — —, Pathogenität, Steigerung durch Kultur bei hoher Temperatur. 616
 — *tumefaciens*, Gallenbildung an *Citrus aurantium*. 167
 — — — *Citrus limetta*. 168
 — — — *Citrus limonum*. 167
 — — — *Citrus vulgaris*. 167
 — — — *Cydonia*. 167

- Bacterium tumefaciens**, Gallenbildung an *Diospyros kaki*. 167
- , — — *Eucalyptus tereticornis*. 167
- , — — *Ficus carica*. 168
- , — — *Hicoria pecan*. 167
- , — — *Juglans californica*. 167
- , — — — var. *hindsii*. 167
- , — — *Juglans cinerea*. 167
- , — — *Juglans nigra*. 167
- , — — *Juglans regia*. 167
- , — — *Juglans sieboldiana*. 167
- , — — *Laurocerasus lyonii*. 167
- , — — *Pirus betulifolia*. 167
- , — — *Pirus communis*. 167
- , — — *Pirus pashia*. 167
- , — — *Prunus allegheniensis*. 167
- , — — *Prunus amygdalus*. 167
- , — — *Prunus armeniaca*. 167
- , — — *Prunus avium*. 167
- , — — *Prunus cerasifera*. 167
- , — — *Prunus davidiana*. 167
- , — — *Prunus domestica*. 167
- , — — *Prunus mahaleb*. 167
- , — — *Prunus orthosepala*. 167
- , — — *Prunus persica*. 167
- , — — *Prunus platycarpa*. 167
- , — — *Prunus simonii*. 167
- , — — *Prunus triflora*. 167
- , — — *Schinus molle*. 167
- , — — *Sterculia acerifolia*. 168
- , — — *Sterculia diversifolia*. 168
- *typhi*, Wirkung von Gelatine verschiedener Konzentration. 564
- *violaceum*, Wirkung von Gelatine verschiedener Konzentration. 561
- Baeocera**, Vorkommen von *Scaphidiomyces baeocerae*. 116
- Bakterien**, Ammoniakbildung, Wirkung von Protozoen. 22
- , Boden-, Ammoniakbildung, Beziehung zur Ertragsfähigkeit. 65
- , —, antagonistische Wirkung von Salzen. 67
- , —, Nitratbildung, Beziehung zur Ertragsfähigkeit des Bodens. 65
- , —, Stickstoffbindung antagonistische Wirkung von Salzen. 502
- , —, Tätigkeit, Beziehung zur Ertragsfähigkeit des Bodens. 65
- , einheitliche Beschreibung in Amerika. 385
- , Einzellkultur. 526
- , Erreger der Zweigdürre der Obstbäume. 126
- , Farbstoffbildung. 6. 398. 529
- , Gehalt des Bodens, Bestimmungsmethode. 66
- , — — in verschiedenen Jahreszeiten. 255. 510
- , — von Lösungen, Wirkung von Protozoen. 19
- , — — Luft in Straßen und Schulräumen. 71
- , — — Milch, Bedeutung der Streu. 80
- Bakterien**, Gehalt von Rohrzucker, Bestimmung. 335
- , Milchsäure-, Einsäuerung von Futtermitteln. 585
- , —, Verwendung von Reinkulturen zum Herstellen von Sauerfutter. 264
- , —, Zuckerumsatz, Wirkung von Humat. 85
- , Purpur-, Untersuchung. 76
- , Schädlinge von *Iris pallida*. 149
- , — — *Lachnosterna*. 69
- , Symbiose mit Aphiden. 174
- , Thiosulfat-, denitrifizierende, Untersuchung. 402
- , —, Verbreitung in verschiedenen Bodenarten. 407
- , Vorkommen in Blütennektarien. 96
- , — im Käse. 74
- , — in Milch. 86. 87
- , Wirkung von Gelatine verschiedener Konzentration. 557
- , Zellulosevergärung. 93
- Bakteriengehalt des Bodens**, Bestimmungsmethode. 66
- — — zu verschiedenen Jahreszeiten. 255
- gefrorenen Bodens. 510
- der Luft auf Straßen und in Schulräumen. 71
- — Milch, Bedeutung des Streumaterials. 86
- von Rohrzucker, Medien zur Bestimmung. 335
- Bakterienknoten** an *Ardisia crispa*. 170
- Bakterienkrankheit** der Junikäferlarve. 69
- Bakterienkrankheiten** der Pflanzen. 97
- Bakteriopurpurin**, Untersuchung. 76
- Balsania asperata** n. sp., Schädling von *Ichnanthus pallens*. 114
- *sessilis* n. sp., Schädling von *Ichnanthus*. 114
- Ballota nigra**, Schädigung durch *Sesia annellata*. 151
- Balsaminen**, Aufnahme von Vaselineöl. 196
- Bambus**, Vorkommen von *Amphisphaeria stellata*. 108
- , — — *Malmeomyces pulchella*. 593
- , — — *Porogramme campotogramma* n. sp. an den Stämmen. 107
- Bankskiefer**, Schädigung durch *Tortrix buolina*. 136
- Barbarea vulgaris**, Gallenbildung durch *Aphis*. 168
- Baris parsina**, Gallenbildung an *Moricandia arvensis* var. *suffruticosa*. 170
- Baumweißling**, Bekämpfung. 205
- Baumwollkapselkäfer**, natürliche Feinde. 125
- Baumwollstaude**, Schädigung durch *Chalcosdermus aeneus*. 152
- , — — *Liogryllus bimaculatus*. 180
- Beerensträucher**, Schädigung durch *Orchestes fagi*. 144
- Begonia semperflorans** var. *gigantea*, abnorme Blütenbildung. 157

- Bellit, Wert als Holzkonservierungsmittel. 198
 Belonium brauseanum n. sp., Vorkommen auf Polypodium iboense. 110.
 Benzoesäure, Wert als Konservierungsmittel. 197
 Berninagebiet, Pilze. 105
 Bernsteinsäure, Wirkung auf Hefe. 532
 Berosus, Vorkommen von Autoicomyces bicornis. 116.
 Beta s. a. Rübe u. Zuckerrübe.
 —, Schädigung durch Cercospora beticola. 103
 —, — — Rhizoctonia violacea. 154
 — vulgaris, Schädigung durch Diplodia betae. 106
 Betula nana, Schädigung durch Dothidella betulae-nanae. 98
 — occidentalis, Schädigung durch Pezoloma griseum. 108
 Bienenstöcke, mykologische Untersuchung. 95
 Biorrhiza pallida, Gallenbildung an Eiche. 169
 Birke, Bedeutung für das Auftreten von Boletus scaber und B. versipellis. 120
 —, Gallenbildung durch Eriophyes betulae. 168
 —, — — Eriophyes pisonotus. 168
 —, — — Eriophyes rudis var. longisetosa. 168
 —, Schädigung durch Argyresthia. 191
 —, — — Blattwespen. 187
 Birkenholz, Zersetzung durch Hauschwamm. 95
 Birnbaum s. a. Pirus communis.
 —, Gallenbildung durch Eriophyes piri. 168
 —, Pockenkrankheit, Bekämpfung mit Petroleumseifenbrühe. 130
 —, — — Schwefelkalkbrühe. 130
 —, Schädigung durch Crematogaster scutellaris. 130
 —, — — Rhagoletis pomonella. 130
 —, — — Taphrina bullata. 130
 —, Vorkommen von Hendersonia piricola auf den Blättern. 64
 —, — — Phyllosticta pirina auf den Blättern. 64
 —, — — Septoria nigerrima auf den Blättern. 64
 Birnblattpockenmilbe s. Eriophyes piri.
 Birne, Schädigung durch Formaldehyd. 206
 Blastodiplosis n. gen., Untergattung von Clinodiplosis. 166
 Blattflecken, Photographieren, Methodik. 576
 Blattläuse s. a. Aphiden.
 —, Bedeutung des Gerbstoffes als Schutzmittel gegen Blattläuse. 317
 —, Bekämpfung durch Coccinelliden in Amerika. 211
 —, — mit Schwefelkalkbrühe. 198
 —, Durchbohren der Epidermis. 295
 —, Mundwerkzeuge. 269
 Zweite Abt. Bd 42.
 Blattläuse, Phalangium opilio natürlicher Feind. 211
 —, Reaktion der Pflanzen auf Stiche. 304
 —, Saugphänomen. 265. 284
 —, Speicheldrüsen. 271
 —, Speichelsekret. 274
 —, Verlauf des Stichkanals. 298
 Blattrollkrankheit der Kartoffel, Anfälligkeit verschiedener Rassen. 155
 — — —, Wirkung auf die Keimungsenergie der Knollen. 156
 Blausäure und Schwefelkohlenstoff, Bekämpfungsmittel gegen Pachymerus chinensis. 152
 Blechras, Vorkommen von Laboulbenia blechsi. 115
 Bleiarсенat, Bekämpfungsmittel gegen Carpocapsa pomonella. 129
 —, — — Ceratitis capitata. 205
 —, — — Meligethes aeneus. 215
 —, — — Otiorhynchus singularis. 129
 —, — — Phaeton betulae. 215
 —, — — Porosagrotis vetusta. 147
 —, — — Rhagoletis cingulata. 129
 —, — — Rhagoletis fausta. 129
 Blepharipa scutellata, Perilampus cuprinus natürlicher Feind. 212
 Blitophaga undata, Biologie. 154
 Blütennektarien, Vorkommen von Bakterien und Pilzen. 96
 Blumenkohl, Schädigung durch Orchestes fagi. 144
 Bockkäfer, Bestimmungstabelle. 190
 Boden, Ammoniakbildung, Bestimmungsmethode. 69
 —, —, Beziehung zur Ertragsfähigkeit. 65
 —, —, Wirkung von Calcium und Magnesium. 519
 —, Amoebengehalt, Verhältnis zum Flagellatengehalt. 13
 —, Aufschließung, biologische, elektrolytische Bestimmung. 439
 —, Bakteriengehalt, Bestimmungsmethode. 66
 —, — zu verschiedenen Jahreszeiten. 255.
 —, —, Bakterientätigkeit, Beziehung zur Ertragsfähigkeit. 65
 —, Denitrifikation zu verschiedenen Jahreszeiten. 258
 —, — durch Thiosulfat-Bakterien. 412.
 —, Desinfektion durch Erhitzung. 196
 —, Fäulniskraft zu verschiedenen Jahreszeiten. 259
 —, gefrorener, Bakteriengehalt. 510
 —, graphithaltiger, Wirkung auf Pflanzen. 196
 —, Mikrofauna in Reisgegenden. 393
 —, Müdigkeit, Beseitigung. 98
 —, Nitratbildung, Beziehung zur Ertragsfähigkeit. 65
 —, —, Wirkung von Calciumkarbonat. 577

- Boden, Nitratbildung, Wirkung von Magnesia-Karbonat. 577
 —, — im Frühjahr. 92
 —, Protozoen, Untersuchung. 8
 —, Protozoengehalt, Bestimmung mit der Verdünnungsmethode. 9
 —, —, Wirkung der Feuchtigkeit. 15
 —, —, — — Temperatur. 13
 —, — in Reisgegenden. 393
 —, Stickstoffbindung, Wirkung von Arsenverbindungen. 244
 —, — zu verschiedenen Jahreszeiten. 265
 —, Sulfatbildung. 67
 —, Tätigkeit im Frühjahr. 92
 —, Unkrautsamengehalt. 179
 —, Verbreitung von Thiosulfat-Bakterien in verschiedenen Arten. 407
 —, Vorkommen von *Dorylaimus macrodorus*. 187
 —, — — *Dorylaimus oxycephalus*. 187
 —, — — *Dorylaimus silvester*. 187
 —, — — *Dorylaimus spengelii*. 187
 Bodenlösung, osmotischer Druck und elektrisches Leitungsvermögen. 65
 Böhmen, Boletineen. 120
 —, Hemibasidiomyceten. 99
 —, parasitische Pilze. 101
 —, Ustilagineen. 99
 —, Vorkommen von *Tubercinia*. 100
 Bohne, Schädigung durch *Chalcodermus aeneus*. 152
 —, — — *Laria rufimana*. 147
 Bohnenblasenfuß s. *Heliothrips fasciatus*.
 Boletineen Böhmens. 120
 —, Vorkommen als Mykorrhiza. 120
Boletus chrysenteron, Verbreitung. 120
 — *parasiticus*, Vorkommen auf *Scleroderma*. 120
 — *rufus*, Vorkommen in der Nähe von Espen. 120
 — *rugosus*, Vorkommen in der Nähe von Weißbuchen. 120
 — *scaber*, Vorkommen in der Nähe von Birken. 120
 — *subtomentosus*, Verbreitung. 120
 — *velenovskii*, Vorkommen in der Nähe von Rotbuchen. 120
 — *versipellis*, Vorkommen in der Nähe von Birken. 120
 Bordeauxbrühe s. a. Kupferkalkbrühe.
 —, Bekämpfungsmittel gegen *Haltica amelopaga*. 210
 —, — — *Hellula undalis*. 207
 —, — — *Taphrina bullata* und *T. deformans*. 130
 Boreweizen, Ertrag. 121
Botrichus amittinus, Auftreten. 136
 Botrytiden, Zugehörigkeit von *Oedocephalum*. 81
Botrytis bassiana, Rhodanverbindungen als Stickstoffquelle. 77
 — —, Vorkommen auf *Conchylis*. 210
 — *cinerea*, Schädling vom Weinstock. 102
 135
Botrytis tenella, natürlicher Feind von *Gastropacha pini*. 201
 — *vulgaris* Schädling von Maiglöckchen. 148
Brachida reyi, Vorkommen von *Tetradromyces brachidae*. 115
Brachinus, Vorkommen von *Laboulbenia flexata*. 115
Brachypodium pinnatum, Schädigung durch *Elachista subocellea*. 191
Brassica oleracea s. a. Kohl.
 — —, Schädigung durch *Entophlyctis brassicae*. 146
Bremia, neue Einteilung der Gattung. 162
 — *graminicola* n. sp., Schädling von *Arthraxon ciliare*. 106
 — — — —, Vorkommen von *Cicinnobolus bremiphagus*. 106
 Brennessel, Bekämpfung mit Eisenvitriol. 201
Briaraea, Kohlenstoffnahrung aus Verunreinigungen der Luft. 36
Briza media var. *major*, Schädigung durch *Leucania anderegii*. 192
Brom, Wirkung auf *Bacterium aceti*. 195
 —, — — *Oidium lactis*. 196
 —, — — *Penicillium glaucum*. 196
 —, — — *Saccharomyces cerevisiae*. 195
Broussonetia, Schädigung durch *Parum colligata*. 181
Bruchus scutellaris, Einschleppung nach Europa. 124
 — —, Schädling von Erbsen. 124
Brya ebenus, Schädigung durch *Glomerella cingulata*. 112
Bryobia pratensis, Bekämpfung mit *Petroleumemulsion*. 152
 — —, Kleidermotte, natürlicher Feind. 152
 — —, Schädling von Buchweizen. 152
 — —, — — Gramineen. 152
 — —, *Scymnus punctum* natürlicher Feind. 152
 — —, Schädling vom Klee. 152
 Buche s. a. *Fagus silatica*.
 —, abnorme Bildung. 160
 —, Schädigung durch Frost. 136
 —, — — Trockenheit. 178
 Buchenholz, Zersetzung durch *Hauschwamm*. 95
 Buchweizen, Schädigung durch *Bryobia pratensis*. 152
 Büffelzikade, amerikanische, Vorkommen in Ungarn. 128
Bulgaria iniquinans, Vorkommen. 94
 Bulgarien, Herstellung von Joghurt. 452
 Butter, Fehler. 88
 —, Flecken durch *Oidium*. 88
 —, — — Schimmelpilze. 88
 Cadaverin, Vorkommen in Cheddar-Käse. 90
Cacoma makinoi, Schädling von *Prunus nume*. 160

- Cakile maritima* var. *aegyptica*, Gallenbildung durch Dipteren. 170
Calamagrostis halleriana, Schädigung durch *Tilletia corcontica*. 100
Calamovilfa longifolia, Schädigung durch *Puccinia amphigena*. 108
Calandra granaria, Schädling vom Weizen. 101
 Calcium, Wirkung auf die Ammoniakbildung im Boden. 519
 Calciumhypochlorid, Wirkung auf die Algenentwicklung im Wasser. 73
 Calciumkarbonat, Wirkung auf die Nitratbildung im Boden. 577
 Californien, Aphiden. 184
Calligonum erinaceum, Schädigung durch *Melonomma medium* var. *calligoni*. 105
Calluna vulgaris, Gallenbildung durch *Thrips krolli*. 167
Calodera, Vorkommen von *Monoicomyces caloderae*. 115
Calonectria, Zugehörigkeit von *Trichonectria bambusicola*. 595
 — *fuckelii* f. *everniae* n. f., Vorkommen in Rußland. 105
 — *helminthicola*, Identität mit *Letendrea eurotioides*. 588
Calycanthus, Schädigung durch *Macrosporium calycanthi*. 103
 — — — *Phyllosticta calycanthi*. 103
Calyptranthes tonduzii, Schädigung durch *Phyllachora gentilis* var. *calyptranthis*. 109
Camarosporium halimodendri var. *spondanea* n. var., Vorkommen in Rußland. 105
Camellia, Schädigung durch *Pestalozzia guepini*. 103
Campanula rotundifolia, abnorme Blütenbildung. 157
Camponotus maculatus var. *pallidus*, Vorkommen in *Myrmecodia tuberosa*. 172
Canidia curculionidis, Chalcis Hyperparasit. 153
 — —, *Dibrachys buceanus* Hyperparasit. 153
 — —, *Habrocytus* Hyperparasit. 153
 — — natürlicher Feind von *Phytonomus variabilis*. 153
Cantharomyces bruchi n. sp., Beschreibung. 116
 — *ophioglossae* n. sp., Vorkommen auf *Ophioglossa*. 115
 — *permasculus* n. sp., Vorkommen auf *Parnus*. 115
 — *platensis* n. sp., Vorkommen auf *Parnus*. 115
 Capparidaceen, Schädigung durch *Uredo scheffleri*. 118
Caragana frutescens, Schädigung durch *Physalosporina tranzschelii*. 105
Carduus crispus, Verlauf des Stichkanals von *Aphis cardui*. 298
Carduus defloratus var. *glaucus*, Gallenbildung durch Aphiden. 170
Carex, Rostpilze in Nordamerika. 121
Carlina vulgaris, Fasziation. 157
Carpocapsa funebrana, psychologische Beobachtung. 131
 — *pomonella*, *Ascogaster carpocapsae* natürlicher Feind. 129
 — —, Bekämpfung mit Bleiarsenat. 129
 — —, Biologie. 129
Caryospora putaminum, Vorkommen an Pfirsichkernen. 111
Caryota rumphiana, Schädigung durch *Glomerella cingulata*. 112
Casponia, Vorkommen von *Rhachomyces argentinus*. 116
Cassia fistula, Schädigung durch *Lecanium opimum*. 185
Castanea vesca, Schädigung durch *Coryneum perniciosum*. 103
 — — — *Phyllosticta maculiformis*. 102
Cattleya crispa, Reaktion auf Blattlaustiche. 309
Caulophyllum thalictroides, Schädigung durch *Vermicularia hysteriiformis*. 109
Cecidomyia albipennis, Schädling von *Salix acuminata*. 164
 — — — *Salix cinerea*. 164
 — (?) *debskii* n. sp., Gallenbildung an *Tamarix*. 166
 — *pisi*, Schädling von Erbsen. 124
 — *rosaria*, Schädling von *Salix pulchra*. 164
 — — — *Salix purpurea*. 164
 — *tamaricis*, Gallenbildung an *Tamarix*. 166
 Cecidomyiden, Gallenbildung an *Coronilla coronata*. 170
 — — — *Salix alba*. 164
 — — — *Salix amygdalina*. 164
 — — — *Salix fragilis*. 164
 — — — *Salix herbacea*. 164
 — — — *Salix pentandra*. 164
 — — — *Salix rosmarinifolia*. 164
 — — — *Salix rubra*. 164
 — — — *Salix viminalis*. 164
 — — — *Salix vitellina*. 164
 —, Vergesellschaftung mit *Phytomyza xylostei*. 181
Cedraia fissilis, Schädigung durch *Stenomata dissimilis*. 139
Cedrelaholz, Widerstandsfähigkeit gegen Hausschwamm. 95
Cedrus atlantica, Übertragung von Kiefern-mistel. 176
Celaenopsis, Vorkommen von *Rickia celae-nopsis*. 114
 — — — *Rickia excavata*. 114
 — — — *Rickia pulchra*. 114
 — — — *Rickia spathulata*. 114
Centhospora rubi n. sp., Vorkommen in Böhmen. 101

- Cephalobus ciliatus*, Vorkommen in erkrankten Hyazinthenzwiebeln. 148
 — *persegnis*, Vorkommen in erkrankten Hyazinthenzwiebeln. 148
Cephenodes hylas, Schädling von *Gardenia florida*. 181
Cerastium semidecandrum, Schädigung durch *Trioza cerastei*. 189
 — *triviale*, Schädigung durch *Trioza cerastei*. 189
Ceratitis capitata, Bekämpfung mit Bleiarsenat. 205
 — —, Gesetz zur Verhütung der Einschleppung in Kanada. 199
Ceratocarpus arenarius, Schädigung durch *Uromyces ceratocarpi*. 106
Ceratomyces intermedius n. sp., Vorkommen auf *Tropisternus*. 116
 — *marginalis* n. sp., Vorkommen auf *Tropisternus*. 116
 — *rhizophorus* n. sp., Vorkommen auf *Tropisternus*. 116
 — *ventricosus* n. sp., Vorkommen auf *Tropisternus*. 116
Cercospora beticola, Schädling von *Beta*. 103
 — *eustomae* n. sp. 109
 — *hymenocallidis* n. sp., Schädling von *Hymenocallis littoralis*. 109
 — *mirabilis* n. sp., Schädling von *Crataegus rivularis*. 109
 — *olivascens* var. *minor* n. var., Schädling von *Aristolochia clematis*. 105
 — *viticola*, Schädling des Weinstocks. 101
 — *zonata*, Schädling von *Vicia faba*. 103
Cercospora terminalis n. sp., Schädling von *Veratrum viride*. 109
Cerebella n. sp., Schädling von *Cynodon dactylon*. 110
Cerfolium silvestre, Schädigung durch *Trioza viridula*. 189
Cerura liturata, Schädling von *Homalium fagifolium*. 181
 — —, — *Populus*. 181
Cestrum, Schädigung durch *Stigmatea cestri*. 109
 — —, — *Uromyces cestris* var. *maculans*. 109
Cetonia, *Cryptos mokrzeckii* natürlicher Feind. 213
Ceuthorhynchus, Gallenbildung an *Matricaria inodora*. 168
 — *contractus*, Gallenbildung an *Polygonum hydropiper*. 168
Chaerocampa suffusa, Schädling von *Melastoma*. 181
Chaetophora, Wirkung von Calciumhypochlorid auf die Entwicklung. 73
Chaetothrips uzeli n. gen. et n. sp., Gallenbildung an *Juniperus communis*. 167
Chaitophorus, Vorkommen in Californien. 184
 Chalcididen, Gallen erzeugende, Schlesiens. 169
Chalcis Hyperparasit von *Canidia curculionidis*. 153
Chalcodermus aeneus, Schädling der Baumwollstaude. 152
 — —, — von Bohnen. 152
 — —, — — Erbsen. 152
 Charkow, Mikromycetenflora, Beiträge. 105
Cheimatobia brumata, Schädling von Heidelbeeren. 128
 — —, — — Obstbäumen. 128
Chenopodium album, Schädigung durch *Peronospora effusa*. 103
 — *glaucum*, Gallenbildung durch *Aphis atriplicis*. 167
Chermes abietis, Biologie. 165
 — *viridis*, Biologie. 165
Chilomenes lunatus natürlicher Feind von *Myzus persicae*. 131
Chilonectria cucurbitula, Identität mit *Nectria coryli*. 600
 — *rosellini*, Identität mit *Ophionectria cylindrospora*. 599
 China, Fauna, Beiträge. 180
 Chinasäure, Wirkung auf Hefe. 530
 Chinosol, Bekämpfungsmittel gegen *Fusarium*. 203
Chionanthus virginica, Vorkommen von *Coniothyrium chionanthi*. 97
Chironomus plumosus, Empusa *culicis* natürlicher Feind. 212
Chlorobium limicola, Beschreibung. 76
Chromatium minutissimum, Kultur. 76
 — *vinosum*, Kultur. 76
Chrysanthemum millefoliatum, Schädigung durch *Puccinia proximella*. 106
Chrysomphalus aurantii, *Hyperaspis lateralis* natürlicher Feind. 206
 — —, *Rhizobius lopanthae* natürlicher Feind. 206
 — —, *Scymnus sordidus* natürlicher Feind. 206
 — *citrinus*, *Hyperaspis lateralis* natürlicher Feind. 206
 — —, *Rhizobius lopanthae* natürlicher Feind. 206
 — —, *Scymnus sordidus* natürlicher Feind. 206
Chrysophlyctis endobiotica, Gesetz zur Verhütung der Einschleppung nach Kanada. 199
Chrysoplatycerus splendens, natürlicher Feind von Schildläusen. 206
 Chytridineen, Cytologie. 112
Cicinnobolus bremiphagus n. sp., Vorkommen auf *Bremia graminicola*. 106
 Ciliaten, Gehalt des Bodens in Reisgegenden. 394
Cinclidotus aquaticus, Gallenbildung. 168
Cinnamomum zeylanicum, Schädigung durch *Glomerella cingulata*. 112
Cintractia, Vorkommen in Böhmen. 99
Cirsium arvense, Schädigung durch *Trioza agrophila*. 189

- Cirsium canum*, Gallenbildung durch Aphis. 168
Cissus laciniata, Verpflanzung auf *Opuntia blakeana*. 176
Citromyces glaber, Vorkommen auf *Conchylis*. 210
Citrullus vulgaris, Schädigung durch *Gloeosporium lagenarium*. 113
Citrus, Mottenschildlaus, Bekämpfungsversuche durch Verbreitung von parasitischen Pilzen. 206
— *aurantium*, Gallenbildung durch *Bacterium tumefaciens*. 167
— — *sinensis*, Schädigung durch *Glomerella cingulata*. 112
— *decumana*, Schädigung durch *Glomerella cingulata*. 112
— *limetta*, Gallenbildung durch *Bacterium tumefaciens*. 168
— *limonum*, Gallenbildung durch *Bacterium tumefaciens*. 167
— —, Schädigung durch *Glomerella cingulata*. 112
— —, — — *Macrophoma mantegazziana*. 102
— —, — — *Septoria citri*. 102
— *nobilis*, Schädigung durch *Glomerella cingulata*. 112
— *vulgaris*, Gallenbildung durch *Bacterium tumefaciens*. 167
Cladophora, Wirkung von Calciumhypochlorid auf die Entwicklung. 73
Cladosporium, Schädling von *Crataegus*. 103
—, — — *Vicia*. 103
— *herbarum*, Rhodanverbindungen als Stickstoffquelle. 77
— —, Schädling von Weizen. 102
— —, Vorkommen auf fußkrankem Weizen. 64
— —, Zugehörigkeit von *Hormodendron cladosporioides*. 104
— *viticolum*, Schädling vom Weinstock. 102
— *zizyphi*, Schädling von *Zizyphus vulgaris*. 102
Clasterosporium amygdalearum, Schädling von *Prunus persica*. 101
Claviceps purpurea s. a. Mutterkorn.
— —, Schädling vom Weizen. 101
— —, Sklerotien, Alkaloidgehalt. 122
Clerodendron lividum, Schädigung durch *Acherontia styx*. 181
Clinodiplosis, Aufteilung in verschiedene Genera. 166
Clitocybe, neue Arten. 114
— *egregia* n. sp., Beschreibung. 114
— *nebularis*, Superposition. 158
Clitopilus crispus n. sp., Vorkommen auf dem Boden. 107
Closterium, Wirkung von Calciumhypochlorid auf die Entwicklung. 73
Cnethocampa pithyocampa s. a. Pinienprozessionsspinner.
Cnethocampa pithyocampa, Flacherie. 138
Cocciden, Gallenbildung an *Phyteuma scheuchzeri*. 170
—, Vorkommen von *Microcera tonduzii*. 109
—, — — *Nectria chrysolepis*. 108
—, — — *Nectria gallifera*. 108
—, — — *Nectria viridula*. 108
—, — — *Torubiella tomentosa* var. *citrina*. 108
Coccinella septempunctata, *Tetrastichus coccinellae* natürlicher Feind. 213
Coccinelliden, Bekämpfung von Blattläusen in Amerika. 211
Coccobacillus acridarum, Bekämpfung von Heuschrecken. 215
Coccoloba uvifera, Schädigung durch *Hendersonia coccolobina*. 96
Coccus, neuer, Ähnlichkeit mit *Bacillus coli communis*. 240
Cochliomyces argentinensis n. gen. et n. sp., Beschreibung. 116
Coffea arabica, Schädigung durch *Glomerella cingulata*. 112
Coleosporium datiscæ n. sp., Schädling von *Datisca cannabina*. 105
— *solidaginis*, Schädling von *Solidago canadensis*. 108
— *sonchi*, Schädling von *Tussilago farfara*. 103
Collembolen Galiziens, Beiträge. 166
Colletotrichum, Zugehörigkeit zu *Glomerella*. 119
Comaclathris ipomoeae n. gen. et n. sp., Schädling von *Ipomoea leptophylla*. 108
— *lanata* n. gen. et n. sp., Schädling von *Leptotaenia multifida*. 108
Comandra pallida, Schädigung durch *Cronartium comandrae*. 108
Comptonia asplenifolia, Infektion mit *Peridermium* von *Pinus silvestris* und *P. ponderosa*. 112
Conchylis s. a. Heu- und Sauerwurm u. Traubenwickler.
—, Vorkommen von *Botrytis baesiana*. 210
—, — — *Citromyces glaber*. 210
—, — — *Spicaria farinosa verticillioides*. 210
—, — — *Verticillium heterocladium*. 210
—, *Zicrona coerulea* natürlicher Feind. 211
— *ambiguella*, Schädling vom Weinstock. 102
Coniothecium chromatosporum, Schädling von Obstbäumen. 126
Coniothyrium chionanthi n. sp., Vorkommen auf *Chionanthus virginica*. 97
— *diplodiella*, Schädling des Weinstocks. 101
— *eurotioides*, Vergesellschaftung mit *Leptandraea eurotioides*. 587
— *tirolense*, Schädling von *Pirus communis*. 101
Connophron, Vorkommen von *Cryptandromyces geniculatus*. 115

- Conorhynchus luigionii*, Bekämpfung. 155
 — —, Schädling der Zuckerrübe. 155
Conosoma testaceum, Vorkommen von *Stichomyces catalinae*. 115
Contarinia linariae, Gallenbildung an *Linaria vulgaris*. 109
 — *medicaginis*, Gallenbildung an *Medicago varia*. 167
Convallaria majalis, Schädigung durch *Dendrophoma convallariae*. 102
Copestylum marginatum, Schädling von *Opuntia*. 151
Coprinus atramentarius, Vorkommen. 94
 — *lagopus*, Fruchtkörper, Ausscheidung von Flüssigkeit. 119
Coproporus rutilus, Vorkommen von *Ecteinomyces copropori*. 116
 — —, — *Ecteinomyces filarius*. 116
Cordia suaveolens, Gallenbildung durch Acarinen, Vorkommen von *Aneurothrips punctipennis*. 162
Cordyceps alutacea, Vorkommen in der Schweiz. 111
 — *capitata*, Vorkommen in der Schweiz. 111
 — *militaris*, natürlicher Feind von *Gastropacha pini*. 201
 — —, Vorkommen in der Schweiz. 111
 — *norwegica* n. sp., natürlicher Feind von *Gastropacha pini*. 202
 — *ophioglossoides*, Vorkommen in der Schweiz. 111
Coremiella cystopoides n. sp., Vorkommen auf *Lythrum salicaria*. 99
Corethromyces argentinus n. sp., Vorkommen auf *Cryptobium*. 115
Corethromyces armatus n. sp., Vorkommen auf *Stilicus*. 115
 — *brunneolus* n. sp., Vorkommen auf *Stilicus*. 115
 — *macropus* n. sp., Vorkommen auf *Heterothaps*. 115
 — *ophitis* n. sp., Vorkommen auf *Ophitis fanvelii*. 115
 — *platensis* n. sp., Vorkommen auf *Lathrobium nitidum*. 115
 — — var. *gracilis* n. sp. et n. var., Vorkommen auf *Lathrobium nitidum*. 115
 — *pygmaeus* n. sp., Vorkommen auf *Stilicus*. 115
 — *rhinoceralis* n. sp., Vorkommen auf *Pinophilus suffusus*. 115
 — *rostratus* n. sp., Vorkommen auf *Heterothaps*. 115
 — *scopaei* n. sp., Vorkommen auf *Scopaeus frater*. 115
 — *sigmoideus* n. sp., Vorkommen auf *Stilicus elegans*. 115
 — *stilicolus* n. comb. 115
 — *uncigerus* n. sp., Vorkommen auf *Stilicus elegans*. 115
 — *xantholini* n. sp., Beschreibung. 116
Cornus, Schädigung durch *Argyresthia*. 191
Coronilla coronata, Gallenbildung durch *Cecidomyiden*. 170
 — *emerus*, Ambrosiagalle, Vorkommen von *Macrophoma*. 46
Corydalis cara, Schädigung durch *Urocystis corydalis*. 100
Corylus, Übertragung von Lindenmistel. 176
 — *avellana*, Schädigung durch *Gloeosporium coryli*. 102
 — —, — *Phyllactinia suffulta*. 102
Coryneum, Zugehörigkeit von *Pseudovalsa*. 119
 — *mori* n. sp., Schädling von *Morus alba*. 132
 — *perniciosum*, Schädling von *Castanea vesca*. 102
 — *sorbi* n. sp. 109
Corynites ruficollis, Vorkommen von *Dimeromyces corynitis*. 115
Cosmarium, Wirkung von Calciumhypochlorid auf die Entwicklung. 73
Costarica, Pilzflora, Beiträge. 109
Costus speciosus, Schädigung durch *Glomerella cingulata*. 112
Crataegus, Schädigung durch *Cladosporium*. 103
 — —, — *Glomerella cingulata*. 113
 — —, — *Hyponomeuta padella*. 103
 — —, — *Pamphilus flaviventris*. 145
 — *punctata*, Schädigung durch *Phoma leprosa*. 109
 — *rivularis*, Schädigung durch *Cercospora mirabilis*. 109
Crematogaster scutellaris, Schädling vom Birnbaum. 130
 — —, — von Korkeichen. 130
Criphalus piceae, Vorkommen an Tannen. 135
Cronartium comandrae, Schädling von *Comandra pallida*. 108
 — *flaccidum*, Schädling von *Paeonia*. 135
 — *ribicolum*, Schädling von Schwarzkiefer. 135
Crossotarsus abbreviatus n. sp., Vorkommen in Kamerun. 139
 — *alternans* n. sp., Vorkommen in Kamerun. 139
 — *angustatus* n. sp., Vorkommen in Kamerun. 190
 — *bidentatus* n. sp., Vorkommen in Ostafrika. 139
 — *brevis* n. sp., Vorkommen in Kamerun. 139
 — *castaneus* n. sp., Vorkommen in Usambara. 190
 — *conradti* n. sp., Vorkommen in Kamerun. 139
 — *flavescens* n. sp., Vorkommen in Afrika. 190
 — *impressus* n. sp., Vorkommen in Afrika. 190
 — *rufescens* n. sp., Vorkommen in Kamerun. 190

- Crossotarsus schenklingi* n. sp., Vorkommen in Kamerun. 190
 — *serratus* n. sp., Vorkommen in Kamerun. 139
 — *spinidens* n. sp., Auftreten. 139
 — *spinulosus* n. sp., Vorkommen in Afrika. 190
 — *tenuis* n. sp., Vorkommen in Afrika. 190
Croton, Schädigung durch *Heliothrips haemorrhoidalis*. 212
Crucifera, Gallenbildung in Tunis. 170
 —, Schädigung durch Blattwespen. 187
Cryphalus granulatus var. *tredlii*, Identität mit *Tropophloeus granulatus*. 191
 — *grothi*, Identität mit *Trypophloeus asperatus*. 191
Cryptandromyces geniculatus n. gen. et n. sp., Vorkommen auf *Connophron*. 115
Cryptobium, Vorkommen von *Corethromyces argentinus*. 115
Cryptobremia n. gen. 162
Cryptodiscus araneo-cinctus n. sp., Vorkommen auf abgefallenen Zweigen. 97
Cryptorhynchus lapathi, Biologie und Bekämpfung. 143
 —, Schädling der Erle. 143
Cryptos mokrzeckii, natürlicher Feind von *Cetonia*. 213
Cryptosphaeria moravica n. sp., Vorkommen in Böhmen. 101
Cryptostictella bractearum n. gen. et n. sp., Schädling von *Tilia europaea*. 104
Cryptothrips fuscipennis n. sp., Gallenbildung an *Spatholobus*. 162
 — *intorquens* n. sp., Gallenbildung an *Slimax*. 162
 — *tenuicornis* n. sp., Gallenbildung an *Homalomena*. 162
 —, Vorkommen von *Euthrips flavicinctus*. 162
Cuba, Aleyrodesarten. 187
Cucumis melo, Schädigung durch *Ascochyta melonis*. 105
 —, — — *Fusarium niveum*. 102
 — *sativus* s. a. Gurke. 102
 —, Schädigung durch *Gloeosporium lagenarium*. 113
Cucurbita pepo, Schädigung durch *Gloeosporium lagenarium*. 113
 —, — — *Oidium erysiphoides*. 103
Cucurbitaria halimodendri n. sp., Schädling von *Halimodendron argenteum*. 105
 — *pruni-spinosae* n. sp., Vorkommen in Böhmen. 101
Cunninghamella bertholletiae n. sp., Beschreibung. 79
 — — —, Vorkommen auf Parانیssen. 79
Cuprocorbin, Schutzmittel für Getreide gegen Vogelfraß. 203
Curculigo, Schädigung durch *Glomerella cingulata*. 112
Cuscuta, Schädling vom Weinstock. 102
Cuscuta epilinum, Schädling von *Linum usitatissimum*. 103
 — *epithymum*, Schädling von *Medicago sativa*. 103
 — *lupuliformis*, Schädling von *Vitis silvestris*. 133
Cutikula, Schutz gegen Blattläuse. 295
Cyankali, Bekämpfungsmittel gegen *Atta texana*. 188
 —, — — *Pogonomyrmex barbatus molefaciens*. 188
Cyathea boivini, Schutzvorrichtung gegen Vertrocknung. 177
Cydonia, Gallenbildung durch *Bacterium tumefaciens*. 167
 — *vulgaris*, Schädigung durch *Monilia fructigena*. 102
 — —, — — *Phyllosticta cydonicola*. 102
 — —, — — *Septogloeum cydoniae*. 102
Cylindropalpus affinis n. sp., Vorkommen in Usambara. 190
Cylindrosporium pollacci n. sp., Schädling von *Ilex furcata*. 145
Cymbopogon citratus, Schädigung durch *Puccinia cymbopogonis*. 114
Cynipiden, gallenerzeugende Schlesiens. 169
Cynips conglomerata, Gallenbildung an Eichen. 164
 — *corruptrix*, Gallenbildung an Eichen. 164
 — *kollari*, Gallenbildung an Eichen. 164
 — *lignicola*, Gallenbildung an Eichen. 164
 — *polycera*, Schädling von *Quercus*. 102
Cynodon dactylon, Gallenbildung durch *Lepidopteren*. 170
 —, Schädigung durch *Cerebella*. 110
Cyrtodiplosis n. gen., Untergattung von *Clinodiplosis*. 166
Cystopsora oleae, Schädling von *Olea dioica*. 118
Cystopus candidus, Gallenbildung an *Moricandia cinerea*. 170
Cytase, Vorkommen im Kirschgummi. 130
Cythia trifolii n. sp., Vorkommen auf *Trifolium pratense*. 99
Cytisus laburnum, Schädigung durch *Heterogynis penella*. 181
Cytospora nivea, Schädling von *Populus canadensis*. 103
Dactylaria grisea, Schädling von Reis. 124
Dactylis glomerata, Schädigung durch *Leucania andereggi*. 192
 — —, — — *Uromyces dactylidis*. 121
 — —, Winterfestigkeit. 121
Dactylopius, Bekämpfung. 185
 — *citri*, Schädling von *Loranthus*. 186
Dacus oleae, Schädling von *Olea europaea*. 102
Dahlia variabilis, Schädigung durch *Entyloma dahliae*. 110
Dahlie, Schädigung durch Ohrwurm. 181
Datisca cannabina, Schädigung durch *Coleosporium datiscae*. 105

- Daucus*, Schädigung durch *Rhizoctonia violacea*. 154
 —, — — *Trioza viridula*. 189
Dematophora necatrix, Schädling von *Olea europaea*. 102
Dendroctonus micans, Vergesellschaftung mit Hallimasch. 136
Dendrophoma convallariae, Schädling von *Convallaria majalis*. 102
 Denitrifikation im Boden zu verschiedenen Jahreszeiten. 258
Dermatea mori n. sp. 109
Deschampsia caespitosa Schädigung durch *Leucania andereggi*. 192
Desmatodon latifolius. Doppelnerv. 159
 Deutschland, Reblausbekämpfung. 574
 —, Rhynchoten, Beiträge. 189
 Diamin, Vorkommen in Cheddar-Käse. 90
Diaporthe, Zugehörigkeit von *Myxosporium*. 119
 — *genistae*, Vorkommen in Böhmen. 101
 — *inornata* n. sp., Schädling von *Rhus typhina*. 109
 — *parasitica*, Gesetz zur Verhütung der Einschleppung nach Kanada. 199
 — *saccardiana* var. *moravica* n. var., Vorkommen in Böhmen. 101
Diarrhomyia californica n. sp., Gallenbildung an *Artemisia californica*. 166
Diaspis pentagona, Bekämpfung mit *Prospaltella berlesii* in Italien. 211
Dibrachys buceanus, Hyperparasit von *Canidia cuculionidis*. 153
Dichomyces argentinensis n. sp., Beschreibung. 116
Didymosphaeria eutypae n. sp., Beschreibung. 98
Diestota, Vorkommen von *Amorphomyces rubescens*. 115
Diestrammena marmorata, Einschleppung nach Deutschland. 188
Dimeromyces anisolabis n. sp., Vorkommen auf *Anisolabis annulipes*. 115
 — *corynitis* n. sp., Vorkommen auf *Corynites ruficollis*. 115
Dimorphomyces argentinensis n. sp., Beschreibung. 116
 — *meronevae* n. sp., Vorkommen auf *Meroneva sharpi*. 115
 — *verticalis* n. sp., Vorkommen auf *Atteta*. 115
Dioicomyces, Vorkommen auf *Formicella strangulata*. 115
 — *angularis* n. sp., Vorkommen auf *Anthicus parvus*. 115
 — *malleolaris* n. sp., Vorkommen auf *Anthicus parvus*. 115
 — *umbonatus* n. sp., Vorkommen auf *Anthicus parvus*. 115
Dioryetia silvestrella, Bekämpfung. 138
Diospyros kaki, Gallenbildung durch *Bacterium tumefaciens*. 167
 Dioxybenzoesäure, Kohlenstoffquelle für *Penicillium glaucum*. 649
Diplachne serotina, Schädigung durch *Puccinia permixta*. 106
Diplocarpon n. gen., Zugehörigkeit von *Actinonema rosae*. 149
Diplococcus gadidarum, Erreger der Rotfärbung des Kabeljaus. 400
Diplodia, Schädling von *Olea fragrans*. 103
 — *akebiae* n. sp., Vorkommen auf *Akebia quinata*. 97
 — *betae* n. sp., Schädling von *Beta vulgaris*. 106
 — *polygonicola* n. sp., Vorkommen. 109
Diplogasteroides spengelii n. gen. et n. sp., Vorkommen im Torulafluß der Roßkastanie. 186
Diplosphaerella, Bezeichnung für *Mycosphaerella* mit 16-sporigen Ascis. 118
Diplotaxis erucoides, Gallenbildung durch Dipteren. 170
 — *pendula*, Gallenbildung durch Dipteren. 170
 Dipteren, Gallenbildung an *Cakile maritima* var. *aegyptiaca*. 170
 Dipteren, Gallenbildung an *Diplotaxis erucoides*. 170
 —, — — *Diplotaxis pendula*. 170
 —, — — *Eruca sativa*. 170
 —, — — *Hirschfeldia geniculata*. 170
 —, — — *Moricandia arvensis* var. *suffruticosa*. 170
 —, — — *Rapistrum linnaeanum*. 170
Discopoma, Vorkommen von *Rickia arachnoidea*. 114
 —, — — *Rickia discopomae*. 114
 —, — — *Rickia elegans*. 114
 —, — — *Rickia elliptica*. 114
 Distel Bekämpfung mit Kainit. 201
Ditrichum tortile, teratologische Bildung. 159
Doassansia, Vorkommen in Böhmen. 100
Doassansiopsis, Vorkommen in Böhmen. 100
Docophorus californicus, Vorkommen von *Trenomyces circinans*. 115
 — *monteregi*, Vorkommen von *Trenomyces circinans*. 115
Dolerothrips crassicornis n. sp., Gallenbildung an *Loranthus pentandrus*. 162
 — *laticauda* n. sp., Vorkommen in Gallen an *Schoutenia ovata*. 162
Dolichothrips brevicornis n. gen. et n. sp., Vorkommen an *Macaranga tanarius*. 163
 — *longicollis* n. gen. et n. sp., Vorkommen an *Macaranga tanarius*. 163
Dombeya acutangula, Schädigung durch *Icerya jacobsoni*. 186
Dorylainius, Vorkommen in erkrankten Hyazinthenzwiebeln. 148
Dorylainius macrodorus, Vorkommen im Boden. 187
 — *oxycephalus*, Vorkommen im Boden. 187
 — *silvester* n. sp., Vorkommen im Boden. 187

- Dorylaimus spengelii* n. sp., Vorkommen im Boden. 187
Dothichiza populea, Schädling von *Populus canadensis*. 103
Dothidella betulae-nanae, Schädling von *Betula nana*. 98
 Drahtwürmer, Bekämpfung mit Eisen-vitriol. 200
 —, — — Kainitdüngung. 200. 213
 —, Biologie und Bekämpfung. 212
 —, echte und unechte. 213
 — Schädlinge von Gerste. 212
 —, — — Hafer. 212
 —, — — Kartoffeln. 212
 —, — — Rüben. 212
 —, — — Weizen. 212
Duronia fracta subsp. *kalmyka*, Schädling von Luzerne. 180

 Eberesche, Gallenbildung durch *Eriophyes piri* var. *variolata*. 168
Ecteinomyces copropori n. sp., Vorkommen auf *Coproporus rutilus*. 116
 — *filarius* n. sp., Vorkommen auf *Coproporus rutilus*. 116
 — *thinocharinus* n. sp., Vorkommen auf *Thinocharis exilis*. 116
 Eiche s. a. *Quercus*.
 —, Gallenbildung durch *Andricus fecundator*. 109
 —, — — *Biorrhiza pallida*. 169
 —, — — *Cynips conglomerata*. 164
 —, — — *Cynips corruptrix*. 164
 —, — — *Cynips kollari*. 164
 —, — — *Cynips lignicola*. 164
 —, — — *Neuroterus lenticularis*. 169
 —, Kork-, Schädigung durch *Crematogaster scutellaris*. 130
 —, Schädigung durch *Argyresthia*. 191
 —, — — Blattwespen. 187
 —, — — *Melanconium czerniaiewi*. 106
 —, Widerstandsfähigkeit gegen Trockenheit. 178
 Eichenholz, Vorkommen von *Merulius lacrymans*. 94
 —, Widerstandsfähigkeit gegen Hauschwamm. 95
 Eichenmehltau s. a. *Oidium quercinum*.
 —, Bedeutung in Kroatien. 136
 —, Bekämpfung mit Schwefelkalkbrühe. 198
Eichochaitophorus populifolii n. gen. et n. sp., Schädling von *Populus trichocarpa*. 184
 Eis, Speise-, bakteriologische Untersuchung. 74
 Eisensulfat, Bekämpfungsmittel gegen Brennessel. 201
 —, — — Drahtwürmer. 200
 —, Bekämpfungsversuche gegen Rost. 204
 Eiweiß, Autolyse, Wirkung des Sauerstoffs. 85
 —, Reservestoffe, Ausgangspunkt des Stoffwechsels der Pflanzen. 84
 Eiweißmilch, Ersatz durch Larosan. 89
Elachista subocellea, Schädling von *Brachypodium pinnatum*. 191
Elateromyces n. gen., Vorkommen in Böhmen. 99
 —, Zugehörigkeit von *Uredo olivacea*. 100
 — n. gen., Zugehörigkeit von *Ustilago treubii*. 100
Eleodes letcheri vandykei, Bekämpfung 213
 — *pimelioides*. Bekämpfung. 213
Elephantopus spicatus, Schädigung durch *Puccinia elephantopodis-spicati*. 109
Empusa culicis, natürlicher Feind von *Chironomus plumosus*. 212
Endianda insignis, Schädigung durch *Hainesia aurantiaca*. 114
 Engerlinge, Schädigungen in Aufforstungen 137

Entomosporium mespili, Schädling von *Mespilus germanica*. 102
Entophlyctis brassicae n. sp., Schädling von *Brassica oleracea*. 146
 — *salicorniae* n. sp., Schädling von *Salicornia herbacea*. 146
Entyloma, Vorkommen in Böhmen. 100
 — *dahliae* n. sp., Schädling von *Dahlia variabilis*. 110
 — *subtruncatum* n. sp., Vorkommen. 109
 — *urocystoides* n. n., Zugehörigkeit von *Urocystis corydalis*. 100
Epicoccum, Schädling von Hafer. 102
 — *asterinum* n. sp., Schädling von *Yucca elephantipes*. 109
 — *neglectum*, Schädling von Reis. 101
 — *vulgare*, Schädling von *Iris unguicularis*. 103
 Erbse s. a. *Pisum*.
 —, Schädigung durch *Bruchus scutellaris*. 124
 —, — — *Cecidomyia pisi*. 124
 —, — — *Chalcodermus aeneus*. 152
 —, — — *Etiella zinckenella schisticolor*. 207
 —, — — *Grapholitha dorsana*. 124
 —, — — *Grapholitha nebritana*. 124
 —, — — *Grapholitha roseticolans*. 124
 —, — — *Pegomyia planipalpis*. 207
 Erdbeere s. a. *Fragaria*.
 —, Gallenbildung durch *Phyllocoptes setiger*. 169
Eremascus fertilis, Vorkommen in Bienenstöcken. 95
Erigeron annuus, Gallenbildung durch *Aphis myosotidis*. 170
Eriobotrya japonica, Schädigung durch *Glomerella cingulata*. 112
Eriophyes artemisiae, Gallenbildung an *Artemisia vulgaris*. 168
Eriophyes betulae, Gallenbildung an Birke. 168
 — *cornutus*, Schädling von Quecke. 179
 — *fraxini*, Gallenbildung an *Fraxinus*. 168
 — *laevis*, Gallenbildung an Erle. 168

- Eriophyes macrorhynchus*, Gallenbildung an Ahorn. 168
 — *malinus*, Gallenbildung. 167
 — *padi*, Gallenbildung an Faulbaum. 168
 — —, Schädling von *Prunus*. 102
 — —, — — *Prunus padus*. 102
 — *phloeocoptes*, Gallenbildung. 167
 — *piri*, Bekämpfung mit Petroleum-emulsion. 205
 — —, — — Schwefelkalkbrühe. 205
 — —, Biologie. 205
 — —, Gallenbildung. 167
 — —, — an Birnbaum. 168
 — — *var. variolata*, Gallenbildung an Eberesche. 168
 — *psilonotus*, Gallenbildung an Birke. 168
 — *ribis*, Gallenbildung. 167
 — *rudis var., longisetosa*, Gallenbildung an Birke. 168
 — *salicis*, Gallenbildung an *Salix incana*. 170
 — *silvicola*, Gallenbildung an Kastanie. 169
 — *similis*, Gallenbildung. 167
 — *tetanothrix*, Gallenbildung an Weiden. 169
 — *tiliae*, Gallenbildung an Linde. 169
 — — *var. liosoma*, Gallenbildung an Linde. 169
 — *vitis*, Gallenbildung. 167
 — —, Schädling von *Vitis silvestris*. 133
 — *xylostei*, Gallenbildung an Gaisblatt. 169
Eriosphaeria albido-mucosa, Vorkommen in Böhmen. 101
Erle s. a. Almus glutinosa.
 —, Gallenbildung durch *Eriophyes laevis*. 168
 —, Pilzerkrankung, Wirkung der Trockenheit. 177
 —, Schädigung durch *Argyresthia*. 191
 —, — — Blattwespen. 187
 —, — — *Cryptorhynchus lapathi*. 143
 —, — — *Prociphilus tessellata*. 144
 —, — — Trockenheit. 136
Eruca sativa, Gallenbildung durch Dipteren. 170
Eryngium planum, Gallenbildung. 167
Erysimum crepidifolium, Gallenbildung durch *Aphis erysimi*. 168
Erysiphe graminis, *Acrosporium hyalina* Konidienform. 80
Erysipheen, Entwicklungsgeschichte. 116
Esche s. a. Fraxinus.
 —, Gallenbildung durch *Perrisia fraxini*. 169
 —, Schädigung durch Frost. 136
 —, — — Trockenheit. 136
Espe s. a. Populus tremula.
 —, Bedeutung für das Auftreten von *Boletus rufus*. 120
Essigella californicus, Vorkommen in Californien. 184
Etiella zinckenella schisticolor, Bekämpfung durch Behandlung des Saatgutes mit Schwefelkohlenstoff. 207
Etiella zinckenella schisticolor, Schädling der Erbse. 207
 — — — — — Lupine. 207
Eucalyptus tereticornis, Gallenbildung durch *Bacterium tumefaciens*. 167
Eugenia polyantha, Gallenbildung, Vorkommen von *Leeuwenia gladiatrix*. 162
Eulophus natürlicher Feind von *Phytonomus variabilis*. 153
Eumonoicomyces argentinensis n. sp., Beschreibung. 116
Euparthenos nubilis, Biologie. 145
 — —, Schädling von *Robinia*. 145
Euphorbia, Schädigung durch *Ascostratum*. 110
 — *esula*, Schädigung durch *Sesia empiformis*. 151
 — *silvatica*, *Aecidium* mit einkernigen Zellen. 151
Euproctis chrysorrhoea s. a. Goldafter.
 — —, Auftreten, Wirkung der Trockenheit. 177
 — —, Gesetz zur Verhütung der Einschleppung in Kanada. 199
 — —, natürliche Feinde, *Perilampus cuprinus* Parasit. 212
Europa, Einschleppung von *Bruchus scutellaris*. 124
Eurotia ceratoides, Vorkommen von *Albugo eurotiae*. 105
Eurotium herbariorum, Schädling von Mais. 102
Eurya ochracea, Schädigung durch *Aleyrodes euryae*. 128
Eutelus natürlicher Feind von *Phytonomus variabilis*. 153
Euthrips flavicinctus n. sp., Vorkommen in Gallen durch *Cryptothrips tenuicornis* an *Homalomena*. 162
 — *tritici* *Thripoctenus russeli* natürlicher Feind. 212
Euzercon, Vorkommen von *Rickia arachnoidea*. 114
 —, — — *Rickia euzerconalis*. 114
 —, — — *Rickia furcata*. 114
 —, — — *Rickia kameruna*. 114
Evonymus, Reaktion auf Blattlausstiche. 306
 — *japonica*, Schädigung durch *Oidium evonymi japonicae*. 103
Exoascus deformans, Schädling von *Prunus persica*. 102
 — *pruni*, Schädling von *Prunus americanus*. 108
Exobasidiumgalle an *Rhododendron ferrugineum*, chemische Untersuchung. 150
Exobasidium vaccinii, Gallenbildung an *Rhododendron ferrugineum*. 150
Fadogia, Schädigung durch *Hemileia*. 110
Fäulnis der Samen, Bedeutung der Pektinvergärer. 98
Fäulniskraft des Bodens zu verschiedenen Jahreszeiten. 259

- Fagus silvatica* s. a. Buche.
 — —, Schädigung durch *Orchestes fagi*. 143
 — —, Schleimfluß, Vorkommen von *Mononchus muscorum*. 186
 — —, Verwachsung zweier Stämme. 158
 Farbstoff, Bildung durch Bakterien. 6.
 398. 529
 — — — *Phoma pigmentivora*. 93
 — — — Pilze. 40. 111. 625. 632
 Fasciation an *Carlina vulgaris*. 157
 — — *Tilia platyphyllos*. 157
 Faulbaum, Gallenbildung durch *Eriophyes padi*. 168
 Feldlaboratorien, Einrichtung. 72
 Fermente, peptolytische, Nachweis in Pilzen. 84

Festuca ovina, Schädigung durch *Puccinia crandallii*. 108
 — — — *Puccinia festucina*. 106
 — *pratensis*, Schädigung durch *Puccinia coronifera* f. sp. *festucae*. 121
 Fichte s. a. *Picea excelsa*.
 —, Schädigung durch *Argyresthia*. 191
 — — — Frost. 136
 — — — Trockenheit. 136
 —, Schütte durch Vertrocknung. 140
 —, Vorkommen von *Hylesinus piniperda*. 135
 — — — *Pissodes hercyniae*. 135
 — — — *Polygraphus polygraphus*. 135
 — — — *Tomicus chalcographus*. 135
 — — — *Tomicus micrographus*. 135
 — — — *Xyloterus lineatus*. 135
 Fichtenholz, Zersetzung durch Hauschwamm. 95
 Ficus, Gallenbildung durch *Gynaikothrips ficorum*. 163
 — —, Vorkommen von *Leptothrips constrictus*. 162
 — *carica*, Gallenbildung durch *Bacterium tumefaciens*. 168
 — —, Schädigung durch *Fusarium*. 103
 — — — *Glomerella cingulata*. 112
 — *carnosa*, Vorkommen von *Leptothrips reticulatus*. 163
 — *elastica*, Schädigung durch *Gloeosporium sycophilum*. 148
 — — — *Glomerella cingulata*. 113
 — *longifolia*, Schädigung durch *Glomerella cingulata*. 113
 — *striata*, Schädigung durch *Gloeosporium intermedium* var. *brevipes*. 102
 Finnland, Einschleppung von *Merodon equestris* mit Zwiebeln. 187
 —, Vorkommen von *Ophiobolus*. 122
 — — — *Polyporus annosus*. 142
 Flacherie von *Cnethocampa pithyocampa*. 138

Flacourtia, Schädigung durch *Tachardia aurantiaca*. 186
 — *ramontchi*, Schädigung durch *Lecanium hemisphaericum*. 186

 Flagellaten, Gehalt des Bodens in Reisgegenden. 394
 — — —, Verhältnis zum Amoebengehalt. 13
 Flechtenflora Ost- und Westpreußens, Beiträge. 110
 — Thüringens, Beiträge. 110
 Floria-Saatenschutz gegen Vogelfraß. 203
 Flugbrand der Gerste s. a. *Ustilago nuda*.
 — — —, Bekämpfung mit Heißwasser. 203
 — des Hafers s. a. *Ustilago avenae*.
 — — —, Bekämpfung mit Formalin. 203
 — — — — — Kupfersulfat. 203
 — — Weizens s. a. *Ustilago tritici*.
 — — —, Bekämpfung mit Heißwasser. 203
 Fluoride, Wert als Holzkonservierungsmittel. 198
 Fomes annosus, Vorkommen auf Pinusholz. 94
 — *applanatus*, Vorkommen. 94
 — *igniarius*, Schädling von *Salix*. 103
 Forda formicaria, Beziehung zu Ameisen. 182
 — —, Schädling von Hafer. 182
 — — — Weizen. 182
 Forhin, chemische Zusammensetzung 199
 Formaldehyd, Beschädigung von Äpfeln. 206
 — — — Birnen. 206
 Formalin, Bekämpfungsmittel gegen *Fusarium*. 203
 — — — Haferflugbrand. 203
 — — — Weizensteinbrand. 203
 Formicella strangulata, Vorkommen von *Dioicomyces*. 115
 Fragaria, Schädigung durch *Phyllosticta grandimaculans*. 99
 Fragraea litoralis, Gallenbildung durch *Gynaikothrips litoralis*. 162
 Frangula alnus, Schädigung durch *Sclerophoma simplex*. 99
 Frankreich, Ausbreitung von *Laestadia bidwellii*. 135
 —, Reblausbekämpfung. 575
 Fraxinus s. a. Esche.
 —, Gallenbildung durch *Eriophyes fraxini*. 168
 —, Schädigung durch *Pyrenochaeta fraxinina*. 96
 Frost, Schädigung von Waldbäumen. 136
 Fullawaya saliciradicis n. gen. et n. sp., Schädling von *Salix*. 184
 Fusarium, Bekämpfung mit Chinosol. 203
 — — — Formalin. 203
 — — — Kupfervitriol. 203
 —, Schädling von *Asparagus officinalis*. 103
 — — — *Ficus carica*. 103
 — — — *Solanum lycopersicum*. 103
 — — — *Trifolium*. 103
 — *niveum*, Schädling von *Cucumis melo*. 102
 — *rubiginosum*, Vorkommen auf fußkranken Weizen. 64

- Fusicladium*, Bekämpfung mit Schwefelkalkbrühe. 198
 — *dendriticum*, Schädling von Obstbäumen. 126
 — — — *Pirus malus*. 102
 — — — Vorkommen auf Apfelblättern. 64
 — *depressum* var. *petroselini*, Beziehung zu *Marssonina kirchneri*. 117
 — *sorghii*, Schädling von *Sorghum halepense*. 103
Fusisporium, Rhodanverbindungen als Stickstoffquelle. 77
 Futtergräser, Rostempfänglichkeit, Unterschiede. 121
 —, Schädigung durch *Puccinia graminis*. 103
 Futtermittel, Bedeutung für die hygienische Gewinnung der Milch. 582
 —, Einsäuerung, Methode. 261
 —, — — Milchsäurebakterien. 585
 Futterpflanzen, Schädigung durch *Pachymerus chinensis*. 152
 Fyrishafer, Widerstandsfähigkeit gegen Schwarzrost. 121
 Gaisblatt, Gallenbildung durch *Eriophyes xylostei*. 169
Galeopsis tetrahit, Sporenbildung von *Rhizoctonia violacea* an derselben. 154
Galerita, Vorkommen von *Laboulbenia inflecta*. 116
 —, — — *Laboulbenia sordida*. 116
 — *lacordairii*, Vorkommen von *Laboulbenia marginata*. 116
Galerucella luteola, *Zicrona coerules* natürlicher Feind. 211
Galium, Schädigung durch *Trioza galii*. 189
 — *cruciata*, Gallenbildung durch *Perrisia gallicola*. 170
 — *palustris*, Schädigung durch *Puccinia deminuta*. 118
Galizien, Collembolen, Beiträge. 166
 —, Thysanopteren, Beiträge. 166
 —, Vorkommen von *Pachythrips phaeoptera*. 167
 Gallen an *Cinclidotus aquaticus*. 168
 — — Cruciferen in Tunis. 170
 — — *Eryngium planum*. 167
 — — *Eugenia polyantha*, Vorkommen von *Leeuwenia gladiatrix*. 162
 — — *Ficus*, Vorkommen von *Leptothrips constrictus*. 162
 — — *Hedwigia albicans*. 168
 — — *Impatiens parviflora*. 167
 — — *Leptoscyphus anomalus*. 168
 — — *Lophozia alpestris*. 168
 — — *Lophozia floerkei*. 168
 — — *Lophozia quinqueidentata*. 168
 — — *Lophozia ventricosa*. 168
 — — *Mallotus repandus*, Vorkommen von *Neoheegeria mendax*. 162
 — — *Melastoma polyanthum*, Vorkommen von *Liothrips longirostris*. 162
 — — *Polytrichum formosum*. 168
 Gallen an *Potentilla anserina*. 167
 — — *Racomitrium microcarpum*. 168
 — — *Ranunculus sceleratus*. 167
 — — *Schoutenia ovata*, Vorkommen von *Dolerothrips laticauda*. 162
 — — — —, — — *Neoheegeria mendax*. 162
 — durch Acarinen an *Cordia suaveolens*, Vorkommen von *Aneurothrips punctipennis*. 162
 — — *Amblardiella tamaricum* n. gen. et n. sp., an *Tamarix*. 166
 — — *Andricus fecundator* an Eiche. 169
 — — Aphiden an *Carduus defloratus* var. *glaucus*. 170
 — — — — *Solidago virgaurea*. 170
 — — *Aphis* an *Cirsium canum*. 168
 — — — — *Leonurus cardiaca*. 168
 — — — *atriplicis* an *Chenopodium glaucum*. 167
 — — — *erysimi* an *Erysimum crepidifolium*. 168
 — — — *myosotidis* an *Erigeron annuus*. 170
 — — — *rumicis* an *Amaranthus hypochondriacus*. 170
 — — *Apion amethystinum* an *Trifolium pratense*. 169
 — — — *minimum* an *Salix aurita*. 169
 — — — *seniculum* an *Vicia cracca*. 169
 — — *Aulacidea hieracii* an *Hieracium porrifolium*. 170
 — — *Aulax glechomae* an *Glechoma hederacea*. 169
 — — *Bacterium tumefaciens* an *Citrus aurantium*. 167
 — — — — *Citrus limetta*. 168
 — — — — *Citrus limonum*. 167
 — — — — *Citrus vulgaris*. 167
 — — — — *Cydonia*. 167
 — — — — *Diospyros kaki*. 167
 — — — — *Eucalyptus tereticornis*. 167
 — — — — *Ficus carica*. 168
 — — — — *Hicoria pecan*. 167
 — — — — *Juglans californica*. 167
 — — — — *Juglans californica* var. *hindsii*. 167
 — — — — *Juglans cinerea*. 167
 — — — — *Juglans nigra*. 167
 — — — — *Juglans regia*. 167
 — — — — *Juglans sieboldiana*. 167
 — — — — *Laurocerasus lyonii*. 167
 — — — — *Pirus betulifolia*. 167
 — — — — *Pirus communis*. 167
 — — — — *Pirus pashia*. 167
 — — — — *Prunus allegheniensis*. 167
 — — — — *Prunus amygdalus*. 167
 — — — — *Prunus armeniaca*. 167
 — — — — *Prunus avium*. 167
 — — — — *Prunus cerasifera*. 167
 — — — — *Prunus davidiana*. 167
 — — — — *Prunus domestica*. 167

Gallen durch <i>Bacterium tumefaciens</i> an	Gallen durch <i>Eriophyes artemisiae</i> an
<i>Prunus mahaleb</i> . 167	<i>Artemisia vulgaris</i> . 168
— — — — — <i>Prunus orthosepala</i> . 167	— — — <i>betulae</i> an Birke. 168
— — — — — <i>Prunus persica</i> . 167	— — — <i>fraxini</i> an Fraxinus. 168
— — — — — <i>Prunus platycarpa</i> . 167	— — — <i>laevis</i> an Erle. 168
— — — — — <i>Prunus simonii</i> . 167	— — — <i>macrorhynchus</i> an Ahorn. 168
— — — — — <i>Prunus triflora</i> . 167	— — — <i>malinus</i> . 167
— — — — — <i>Schinus molle</i> . 167	— — — <i>padi</i> an Faulbaum. 168
— — — — — <i>Sterculia acerifolia</i> . 168	— — — <i>phloeocoptes</i> . 167
— — — — — <i>Sterculia diversifolia</i> . 168	— — — <i>piri</i> . 167
— — <i>Baris parsina</i> an <i>Moricandia ar-</i>	— — — — an Birnbaum. 168
<i>vensis</i> var. <i>suffruticosa</i> . 170	— — — — var. <i>variolata</i> an Eberesche. 168
— — <i>Biorrhiza pallida</i> an Eiche. 169	— — — <i>pilonotus</i> an Birke. 168
— — <i>Cecidomyia</i> (?) <i>debskii</i> n. sp. an	— — — <i>ribis</i> . 167
<i>Tamarix</i> . 166	— — — <i>rudis</i> var. <i>longisetosa</i> . 168
— — — <i>tamaricis</i> an <i>Tamarix</i> . 166	— — — <i>salicis</i> an <i>Salix incana</i> . 170
— — <i>Cecidomyiden</i> an <i>Coronilla coro-</i>	— — — <i>silvicola</i> an Kastanie. 169
<i>nata</i> . 170	— — — <i>similis</i> . 167
— — — — <i>Salix alba</i> . 164	— — — <i>tetanolix</i> an Weiden. 169
— — — — <i>Salix amygdalina</i> . 164	— — — <i>tiliae</i> an Linde. 169
— — — — <i>Salix fragilis</i> . 164	— — — — var. <i>liosoma</i> an Linde. 169
— — — — <i>Salix herbacea</i> . 164	— — — <i>vitis</i> . 167
— — — — <i>Salix pentandra</i> . 164	— — — <i>xylostei</i> an Gaisblatt. 169
— — — — <i>Salix rosmarinifolia</i> . 164	— — <i>Exobasidium vaccinii</i> an <i>Rhodo-</i>
— — — — <i>Salix rubra</i> . 164	<i>dendron ferrugineum</i> . 150
— — — — <i>Salix viminalis</i> . 164	— — <i>Gynaikothrips crassipes</i> an <i>Piper</i>
— — — — <i>Salix vitellina</i> . 164	<i>nigrum</i> . 162
— — <i>Ceuthorhynchus</i> an <i>Matricaria ino-</i>	— — — <i>ficorum</i> an Ficus. 163
<i>dora</i> . 168	— — — <i>litoralis</i> an <i>Fragraea litoralis</i> . 162
— — — <i>contractus</i> an <i>Polygonum hydro-</i>	— — — <i>Isosoma</i> an Gramineen. 169
<i>piper</i> . 168	— — — <i>graminicola</i> an Quecke. 179
— — <i>Chaetothrips uzeli</i> an <i>Juniperus</i>	— — <i>Lepidopteren</i> an <i>Cynodon dactylon</i> . 170
<i>communis</i> . 167	— — <i>Liothrips brevitubus</i> an <i>Mallotus</i>
— — <i>Cocciden</i> an <i>Phyteum scheuchzeri</i> . 170	<i>repandus</i> . 162
— — <i>Contarinia linariae</i> an <i>Linaria vul-</i>	— — <i>Myopites limbardae</i> an <i>Inula vis-</i>
<i>garis</i> . 169	<i>cosa</i> . 162
— — — <i>medicaginis</i> an <i>Medicago varia</i> . 167	— — <i>Myzus ribis</i> an <i>Johannisbeerstrauch</i> . 169
— — <i>Cryptothrips fuscipennis</i> an <i>Spatho-</i>	— — <i>Nematoden</i> an <i>Polygonum persi-</i>
<i>lobus</i> . 162	<i>caria</i> . 170
— — — <i>intorquens</i> an <i>Smilax</i> . 162	— — <i>Neuroterus lenticularis</i> an Eiche. 169
— — — <i>tenuicornis</i> an <i>Homalomena</i> . 162	— — <i>Pemphigus imaicus</i> n. sp. an <i>Populus</i>
— — — — <i>Homalomena</i> , Vorkom-	<i>ciliata</i> . 170
men von <i>Euthrips flavicinctus</i> . 162	— — — <i>mordwilkoii</i> an <i>Populus ciliata</i> . 170
— — <i>Cynips conglomerata</i> an Eichen. 164	— — — <i>nainitalensis</i> an <i>Populus ciliata</i> . 170
— — — <i>corruptrix</i> an Eichen. 164	— — — <i>populicaulis</i> an <i>Populus monili-</i>
— — — <i>kollari</i> an Eichen. 164	<i>fera</i> . 184
— — — <i>lignicola</i> an Eichen. 164	— — — — <i>Populus tremuloides</i> . 184
— — <i>Cystopus candidus</i> an <i>Moricandia</i>	— — — <i>populimonilis</i> an <i>Populus tricho-</i>
<i>cinerea</i> . 170	<i>carpa</i> . 184
— — <i>Diarthronomyia californica</i> n. sp.	— — <i>Perrisia fraxini</i> an Esche. 169
an <i>Artemisia californica</i> . 166	— — — <i>gallicola</i> an <i>Galium cruciata</i> . 170
— — <i>Dipteren</i> an <i>Cakile maritima</i> var.	— — — (?) <i>tamaricina</i> an <i>Tamarix</i> . 166
<i>aegyptiaca</i> . 170	— — — <i>ulmariae</i> an <i>Ulmaria filipendula</i> . 169
— — — — <i>Eruca sativa</i> . 170	— — <i>Phyllocoptes fockeni</i> . 167
— — — — <i>Diplotaxis erucoides</i> . 170	— — — <i>gymnaspis</i> an Ahorn. 169
— — — — <i>Diplotaxis pendula</i> . 170	— — — <i>populi</i> an Pappel. 169
— — — — <i>Hirschfeldia geniculata</i> . 170	
— — — — <i>Moricandia arvensis</i> var. <i>suf-</i>	
<i>fruticosa</i> . 170	
— — — — <i>Rapistrum linnaeanum</i> . 170	
— — <i>Dolerothrips crassicornis</i> an <i>Loran-</i>	
<i>thus pentandrus</i> . 162	

- Gallen durch *Phyllocoptes schlechtendali*. 167
 — — — *setiger* an Erdbeeren. 169
 — — — *unguiculatus*. 167
 — — — *vitis*. 167
 — — *Pontania proxima* an *Salix hastata*. 170
 — — — — — *Weiden*. 169
 — — *Prinothrips niezabitowski* an *Juniperus communis*. 167
 — — *Psectrosema provincialis* n. sp. an *Tamarix*. 166
 — — — *tamaricis*. 166
 — — *Rhabdophaga heterobia* an *Salix viminalis*. 167
 — — — — — *Salix viminalis* × *amygdalina*. 167
 — — *Rhodites rosae* an *Rose*. 169
 — — *Rhopalomyia tanaceticola* an *Tanacetum vulgare*. 169
 — — — *tubifex* an *Artemisia campestris*. 169
 — — *Schizoneura ulmi* an *Ulme*. 169
 — — *Siphocoryne xylostei* an *Lonicera caprifolium*. 165
 — — — — — *Lonicera italica*. 165
 — — — — — *Lonicera periclymenum*. 165
 — — — — — *Lonicera sempervirens*. 165
 — — *Tetraneura ulmi* an *Ulme*. 169
 — — *Thrips kroli* n. sp. an *Calluna vulgaris*. 167
 — — — — — — — *Melampyrum nemorosum*. 167
 — — — *sacchari*. 163
 — — — *serratus*. 163
 — — *Trichopsilla walkeri* an *Rhamnus saxatilis*. 170
 — — *Trypeta stellata* an *Matricaria inodora*. 168
 —, Erreger, Aufzucht. 164
 — *Schlesiens*, Beiträge. 169
Gallionella ferruginea, Vorkommen im Tertiär. 93
Gallmücken der westlichen Staaten Nordamerikas. 166
Gammaside, Vorkommen von *Rickia discreta*. 114
Ganoderma ostracodes n. sp., Vorkommen auf Baumstümpfen. 107
Gardenia florida, Schädigung durch *Cephenodes hylas*. 181
Gastrodia elata, Symbiose mit *Armillaria mellea*. 173
Gastropacha pini, massenhaftes Auftreten in Norwegen. 201
 — —, *Botrytis tenella* natürlicher Feind. 201
 — —, *Cordyceps militaris* natürlicher Feind. 201
 — —, *Cordyceps norwegica* natürlicher Feind. 202
 — —, *Sporotrichum globuliferum* natürlicher Feind. 201
Gastropacha pini, Vorkommen von *Acrostalagmus*. 201
 — —, — — *Bacillus coli commune* im Darm. 201
 — —, — — *Isaria destructor*. 201
 — —, — — *Monilia bombycis*. 201
 — —, — — *Muscardine*. 201
 — —, — — *Penicillium rubrum*. 201
 — —, — — *Torula bombycis* f. *major* und f. *minor*. 201
 — —, — — *Trichothecium*. 201
 — —, — — *Verticillium*. 201
Gefrorenes, bakteriologische Untersuchung 74
Gelatine, Wirkung verschiedener Konzentration auf Bakterien und Hefen. 557
Gentisinsäure, Bildung aus *Salicylsäure* durch *Penicillium glaucum*. 658
Geodiplosis n. gen., Untergattung von *Clinodiplosis*. 166
Geotrichum candidum, Vorkommen. 79
 — *cuboideum*, Vorkommen. 80
Geranium nepalense, Schädigung durch *Puccinia geranii*. 152
 — *richardsoni*, Schädigung durch *Puccinia geranii*. 151
 — *rotundifolium*, Schädigung durch *Puccinia geranii*. 151
 — *sessiflorum*, Schädigung durch *Puccinia callaensis*. 152
 — *silvaticum*, Schädigung durch *Puccinia geranii*. 151
 — *venosum*, Schädigung durch *Puccinia geranii*. 152
Gerbstoff, Bedeutung als Schutzmittel gegen Blattläuse. 317
Gerste s. a. *Hordeum*.
 —, Flugbrand, Bekämpfung mit Heißwasser. 203
 —, Hartbrand, Bekämpfung mit Heißwasser. 203
 —, Schädigung durch Drahtwürmer. 212
 —, — — *Puccinia graminis*. 101
Getreide, fußkrankes, Pilzflora. 64
 —, Rost, Bedeutung der an den Körnern sitzenden Sporen. 117
 —, Saatgut, Schutz gegen Mäusefraß durch *Aloe*. 203
 —, — —, — *Vogelfraß* durch *Aloe*. 203
 —, —, — — — *Antiavit*. 203
 —, —, — — — *Cuprocorbin*. 203
 —, —, — — — *Floria-Saatenschutz*. 203
 —, —, Vorbereitung. 202
 —, Schädigung durch *Alternaria*. 102
 —, — — *Anisoplia austriaca*. 122
 —, — — *Calandra granaria*. 101
 —, — — *Cladosporium herbarum*. 102
 —, — — *Claviceps purpurea*. 101
 —, — — *Drahtwürmer*. 212
 —, — — *Epicoccum*. 102
 —, — — *Forda formicaria*. 182
 —, — — *Helminthosporium*. 102
 —, — — *Puccinia graminis*. 101

- Getreide, Schädigung durch Siphonophora cerealis. 102
- Gibbera tinctoria n. sp., Schädling von Manotes glaber. 114
- Ginkgo biloba, Schädigung durch Glomerella cingulata. 113
- Glechoma hederacea, Gallenbildung durch Aulax glechomae. 169
- Gleditschia triacanthos, Schädigung durch Glomerella cingulata. 113
- Gliocladium prolificum n. sp., Vorkommen auf nassem Stroh. 81
- Gloeosporium, Zugehörigkeit zu Glomerella, Gnomonia, Neofabrea, Pseudopeziza, Sphaerella und Trochila. 119
- coryli, Schädling von Corylus avellana. 102
- fructigenum, Schädling von Obstbäumen. 126
- intermedium var. brevipes, Schädling von Ficus striata. 102
- lagenarium, Schädling von Citrullus vulgaris. 113
- — — Cucumis sativus. 113
- — — Cucurbita pepo. 113
- lindemuthianum, Schädling von Phaseolus vulgaris. 113
- musarum, Schädling von Musa paradisiaca sapientium. 113
- phacidiellum n. sp., Schädling von Prunus laurocerasus. 104
- psoraleae n. sp., Vorkommen. 109
- sycophilum n. sp., Schädling von Ficus elastica. 148
- Glomerella, Zugehörigkeit von Gloeosporium. 119
- , Parasitismus. 113
- cingulata, Schädling von Psidium guajava. 113
- —, Variabilität. 113
- —, Wirtspflanzen. 112
- gossypii, Schädling von Gossypium hirsutum. 113
- Glutaminsäure, Vorkommen in Cheddar-käse. 90
- Glycobacter peptolyticus, Verzuckerung von Stärke. 450
- proteolyticus, Verzuckerung von Stärke. 450
- Glyzerin, Wirkung auf Hefe. 532
- Glyzin, Vorkommen in Cheddar-käse. 90
- Gnomonia, Zugehörigkeit von Gloeosporium u. Marssonina. 119
- Gnomoniella alnobetulae n. sp., Vorkommen im Berninagebiet. 105
- rosae, nicht zu Actinonema gehörend. 150
- Goldafter s. a. Euproctis chrysorrhoea. —, Bekämpfung. 191. 205
- — mit natürlichen Feinden in Amerika. 211
- Gonatobotryum, Zugehörigkeit zu Verticilliacen. 81
- Gonatorrhodiella, systematische Stellung. 81
- Goniocotes, Vorkommen von Trenomyces histophorus. 114
- Gossypium hirsutum, Schädigung durch Glomerella gossypii. 113
- Gramineen, Gallenbildung durch Isosoma. 169
- , Schädigung durch Bryobia pratensis. 152
- Graphiola, Vorkommen in Böhmen. 100
- phoenicis, Schädling von Phoenix dactylifera. 101
- Graphitgehalt des Bodens, Wirkung auf Pflanzen. 196
- Grapholitha dorsana, Schädling von Erbsen. 124
- nebritana, Schädling von Erbsen. 124
- oxytropidis n. sp., Schädling von Oxytropis pilosa. 151
- roseticolans, Schädling von Erbsen. 124
- Graufäule des Weinstocks. 134
- Griechenland, Reblausbekämpfung. 575
- Gummifluß des Kirschbaums, enzymatische Untersuchung. 130
- Gurke s. a. Cucumis sativus.
- , Schädigung durch Nectriella cucumeris. 147
- Gymnoascus confluens n. sp., Fällung von Kasein. 111
- — — —, Farbstoffbildung. 111
- — — —, Vorkommen auf Sternblume. 111
- setosus, Vorkommen in Bienenstöcken. 95
- Gymnosporangium juniperinum, Schädling von Pirus communis. 101
- Gynaikothrips crassipes n. sp., Gallenbildung an Piper nigrum. 162
- ficorum, Gallenbildung an Ficus. 163
- litoralis n. sp., Gallenbildung an Fragaria litoralis. 162
- Gynandrisis sisyrinchium, Schädigung durch Puccinia melanopsis. 118
- Gypsophila repens, Schädigung durch Puccinia gypsophilae-repentis. 104
- Gyrinus, Vorkommen von Laboulbenia funeralis. 116
- Gyrocampa pospelovi, natürlicher Feind von Oscinella frit. 213
- Gyrodontium eberhardti n. sp., Vorkommen auf Pfählen. 107
- Habranthus pratensis, Schädigung durch Merodon equestris. 148
- Habrocytus, Hyperparasit von Canidia curculionidis. 153
- fasciatus, natürlicher Feind von Anthrenus pomorum. 215
- microgastris, natürlicher Feind von Apanteles pieridis. 213
- — — — Hapanteles glomeratus. 213
- Hadena basilinea, Schädling von Quecke. 179

- Hadrobremia* n. gen., Untergattung von *Clinodiplosis*. 166
Hafer s. a. *Avena sativa*.
 —, Flugbrand, Bekämpfung mit Formalin. 203
 —, —, — Kupfersulfat. 203
 —, Schädigung durch Drahtwürmer. 212
 —, — — *Epicoccum*. 102
 —, — — *Forda formicaria*. 182
 —, — — *Helminthosporium*. 102
 —, — — *Siphonophora cerealis*. 102
 —, — — *Ustilago avenae*. 102
 —, Widerstandsfähigkeit einer Sorte gegen Schwarzrost. 121
Hainesia aurantiaca n. sp., Schädling von *Endianda insignis*. 114
Halimodendron argenteum, Schädigung durch *Cucurbitaria halimodendri*. 105
Hallimasch s. a. *Armillaria mellea*.
 —, Bekämpfung. 204
 —, Vergesellschaftung mit *Dendroctonus micans*. 136
Haltica ampelophaga, Bekämpfung mit Bordeauxbrühe. 210
 —, Biologie und Bekämpfung. 210
 —, Schädling des Weinstocks in der Gironde. 210
 —, *Zicrona coerulea* natürlicher Feind. 211
Hanf, Schädigung durch *Psylliodes attenuata*. 156
 —, — — *Psylliodes punctatula*. 156
Hapanteles glomeratus, *Habrocyrtus mirogastris* natürlicher Feind. 213
Haplothrips aculeatus, Verbreitung. 163
Hartbrand der Gerste, Bekämpfung mit Heißwasser. 203
Hausschwamm, echter, Erkennung und Unterscheidung. 94
 —, Nachweis, notwendige Feststellungen. 95
 —, Widerstandsfähigkeit verschiedener Hölzer. 95
Hedwigia albicans, Gallenbildung. 168
Hedysarum coronarium, Schädigung durch *Anthostomella sullae*. 150
 —, — — *Leptothyrium sullae*. 150
Hefe, Vorkommen in Blütennektarien. 96
 —, Wirkung von Gelatine verschiedener Konzentration. 557
 —, — organischer Säuren. 530
Heidelbeere, Schädigung durch *Cheimatobia brumata*. 128
 —, — — *Rhagoletis pomonella*. 130
 —, — — *Sclerotinia baccarum*. 135
Heißwasser, Bekämpfungsmittel gegen Gerstenflugbrand. 203
 —, — — Gerstenhartbrand. 203
 —, — — *Helminthosporium*. 203
 —, — — Weizenflugbrand. 203
Heliothrips, Bestimmungstabellen. 132
 — *aulmanni*, Schädling vom Kakaobaum. 132
Heliothrips fasciatus, *Thripoctenus russeli* natürlicher Feind. 212
 — *haemorrhoidalis*, Bekämpfungsmittel. 212
 — —, Bekämpfung mit Petroleumemulsion. 212
 — —, — — Tabakextrakt. 212
 — —, Schädling von *Croton*. 212
Helix pomatia, Monographie. 193
Hellula undalis, Bekämpfung mit Bordeauxbrühe. 207
 — —, — — Petroleumemulsion. 207
 — —, Schädling von Kohl. 207
Helminthosporium, Bekämpfung mit Heißwasser. 203
 —, — — Kupfervitriol. 203
 —, Schädling von *Hafer*. 102
 — *macrocarpum*, Schädling von Reis. 102
 — —, Vergesellschaftung mit *Letendreaa eurotioides*. 587
Hemibasidiomyceten Böhmens. 99
Hemileia n. sp., Schädling von *Fadogia*. 110
 — — —, — — *Tricalysia*. 110
Hemipteren, paläarktische, Katalog. 182
Hemispora stellata, Zugehörigkeit zu *Oospora*. 82
Hemitelia capensis, Schutzvorrichtung gegen Vertrocknung. 177
Hendersonia coccolobina n. sp., Schädling von *Coccoloba uvifera*. 96
 — *herpotricha*, Vorkommen auf fußkrankem Weizen. 64
 — *hypocarpa* n. sp., Schädling von *Rosen*. 96
 — *oryzae* n. sp., Schädling vom Reis. 124
 — *pinicola*, Vorkommen auf Birnbaumblättern. 64
Heracleum sphondylium, Wirkung von Trockenheit. 177
Hermetia, Schädling von *Opuntia*. 151
Hermingsinia caespitosa n. sp., Vorkommen. 109
Heteroceros, Vorkommen von *Laboulbenia heteroceratis*. 116
Heterochaete roseola n. sp., Vorkommen auf abgestorbener Rinde. 107
Heterodera radicola, Schädling von *Panax quinquefolium*. 125
 — —, — der Quecke. 179
 — *schachtii*, Schädling von Quecke. 179
Heterogynis penella, Biologie. 181
 — —, Schädling von *Cytisus laburnum*. 181
Heteropogon, Schädigung durch *Linocharella striiformis*. 110
Heterothaps, Vorkommen von *Corethromyces macropus*. 115
 —, — — *Corethromyces rostratus*. 115
Heuschrecke, Bekämpfung mit *Coccobacillus acridarum*. 215
Heuschreckenplagen auf Sardinien. 188
Heuschreckenplage in Uruguay, Bekämpfung. 215
Heu- und Sauerwurm s. a. *Conchilis*.

- Heu- und Sauerwurm, Bekämpfungsversuche mit Marienkäfern. 212
- Hexagona dermatiphora, Beschreibung. 98
- pobeguini, Beschreibung. 98
- subtenuis, Beschreibung. 98
- Hibernia defoliaria, Apanteles hiberniae natürlicher Feind. 213
- Hicoria pecan, Gallenbildung durch Bacterium tumefaciens. 167
- Hieracium porrifolium, Gallenbildung durch Aulacidea hieracii. 170
- Hipparchia egeria, Schädling von Quecke. 179
- Hippeastrum, Schädigung durch Merodon equestris. 148
- Hippophaë rhamnoides, Schädigung durch Trioza binotata. 189
- Hirschfeldia geniculata, Gallenbildung durch Dipteren. 170
- Holobremia n. gen. 162
- Holz, Konservierung mit Kreosotöl. 197
- , Vorkommen von Pilzen. 94
- Homalium tagifolium, Schädigung durch Cerura liturata. 181
- Homalomena, Gallenbildung durch Cryptothrips tenuicornis. 162
- , — — Cryptothrips tenuicornis, Vorkommen von Euthrips flavicinctus. 162
- Homalota, Vorkommen von Amorphomyces rubescens. 115
- Homiobremia n. gen. 162
- Hopfen s. a. Humulus lupulus.
- , Schädigung durch Psylliodes attenuata. 156
- , — — Psylliodes punctatula. 156
- Hordeum, Schädigung durch Tilletia pančićii in Böhmen. 100
- distichum, Schädigung durch Ustilago hordei in Böhmen. 99
- —, — — Ustilago nuda in Böhmen. 99
- Hormodendron chlorinum, Beziehung zu H. cladosporioides. 104
- cladosporioides, Zugehörigkeit zu Cladosporium herbarum. 104
- elatum, Beziehung zu H. cladosporioides. 104
- griseum, Beziehung zu H. cladosporioides. 104
- nigro-virens, Beziehung zu H. cladosporioides. 104
- viride, Beziehung zu H. cladosporioides. 104
- Hühner, Vertilgung von Ohrwürmern. 181
- Huflattich s. a. Fussilago farfara.
- , Bekämpfung mit Kainit. 201
- Humat, Wirkung auf den Zuckerumsatz von Milchsäurebakterien. 85
- Humulus lupulus s. a. Hopfen.
- , Schädigung durch Oidium erysi-phoides. 102
- Hyalopus heterosporus n. sp., Beschreibung. 27
- — —, Farbstoffbildung. 40
- Hyalopus heterosporus n. sp., Physiologie. 31
- Hyazinthe, Vorkommen von Anguilluliden in erkrankten Zwiebeln. 148
- Hydnum artocreas, Vorkommen. 94
- coralloides, Vorkommen. 94
- erinaceus, Vorkommen. 94
- Hydrocharis, Vorkommen von Synptomycetes argentinus. 116
- Hygrodiplosis n. gen., Untergattung von Clinodiplosis. 166
- Hygrophorus miniato-albus n. sp., Vorkommen auf dem Boden. 107
- Hylemyia coarctata, Biologie. 121
- Hylesinus piniperda, Vorkommen an Fichten. 135
- Hylostes cunicularius, Bedeutung. 136
- Hylotoma pagana, Schädling von Rosen. 145
- Hymenocallis littoralis, Schädigung durch Cercospora hymenocallidis. 109
- Hymenomyceten, Fruchtkörper, Ausscheidung von Flüssigkeit. 118
- Hymenophyllum ulei, Schutzvorrichtung gegen Vertrocknung. 177
- Hyperaspis lateralis, natürlicher Feind von Schildläusen. 206
- Hyphantria textor, natürliche Feinde, Perilampus hyalinus Parasit. 212
- Hypochnus centrifugus, Vorkommen auf Formosa. 119
- violaceus, neuer Name für Rhizoctonia violacea. 153
- Hypocreaceen, Untersuchung. 587
- Hypocreopsis paraguayensis, Identität mit Nectria paraguayensis. 594
- Hypolycaena erylus, Symbiose mit Oecophylla smaragdina. 173
- Hyponomeuta malinella, Schädling von Pirus malus. 102
- padella, Schädling von Crataegus. 103
- —, — — Prunus. 103
- Hysterium cubense n. sp., Vorkommen. 109
- Japan, Aleurodesarten. 128
- , Pilzflora, Beiträge. 107
- , Pilzkrankheiten des Reis. 124
- Java, Thysanopterocecidien. 162
- Ibalia schirmeri, Zugehörigkeit zu Ibalia leucospoides. 167
- Icerya jacobsoni, Schädling von Dombeya acutangula. 186
- purchasi, Hermaphroditismus der Larven. 127
- Ichnanthus, Schädigung durch Balansia sessilis. 114
- pallens, Schädigung durch Balansia asperata. 114
- Ilex aquifolium, Schädigung durch Pestalozzia. 103
- turcata, Schädigung durch Cyindrosporium pollacci. 145
- integra, Schädigung durch Aleurodes tokyonis. 128

- Impatiens parviflora*, Gallenbildung. 167
Indigofera linifolia, Schädigung durch *Uromyces orientalis*. 118
Inula viscosa, Gallenbildung durch *Myopites limbardae*. 162
 Invertase der Pflanzen, Aktivität während des Winterschlafes. 85
 Jod, Wirkung auf *Bacterium aceti*. 195
 —, — — *Oidium lactis*. 196
 —, — — *Penicillium glaucum*. 196
 —, — — *Saccharomyces cerevisiae*. 195
Johannisbeerstrauch, Gallenbildung durch *Myzus ribis*. 169
Iphiopsis, Vorkommen von *Rickia anomala*. 114
Ipomoea leptophylla, Schädigung durch *Comaclathris ipomoeae*. 108
Iris, Schädigung durch Blattwespen. 187
 — *pallida*, Schädigung durch Bakterien. 149
 — *unguicularis*, Schädigung durch *Epicoecum vulgare*. 103
Isaria destructor, Vorkommen auf *Gastropacha pini*. 201
 — *farinosa*, Rhodanverbindungen als Stickstoffquelle. 77
Isoleucin, Vorkommen in Cheddarkäse. 90
Isosoma, Gallenbildung an Gramineen. 169
 — *graminicola*, Gallenbildung an Quecke. 179
 Italien, Bekämpfung von *Diaspis pentagona* mit *Prospaltella berlesii* in Italien. 211
 —, pilzparasitäre Pflanzenkrankheiten. 1907. 101
 —, — — 1908. 102
 —, Reblausbekämpfung. 575
Juglans californica, Gallenbildung durch *Bacterium tumefaciens*. 167
 — — *var. hindsii*, Gallenbildung durch *Bacterium tumefaciens*. 167
 — *cinerea*, Gallenbildung durch *Bacterium tumefaciens*. 167
 — *nigra*, Gallenbildung durch *Bacterium tumefaciens*. 167
 — *regia*, Gallenbildung durch *Bacterium tumefaciens*. 167
 — —, Schädigung durch *Marssonina juglandis*. 102
 — — — *Phyllosticta juglandis*. 102
 — *sieboldiana*, Gallenbildung durch *Bacterium tumefaciens*. 167
 Junikäfer, Larve, Bakterienkrankheit. 69
Juniperus communis s. a. Wacholder.
 — —, Gallenbildung durch *Chaetothrips uzeli*. 167
 — — — *Prinothrips niezabitoski*. 167
 Kabeljau, gesalzener, Rotfärbung durch einen *Micrococcus*. 398
 Käfer, Fang mit dem Kätscher. 215
 Käse, Cheddar-, bakteriologische Untersuchung. 74
 Käse, Cheddar, Stickstoffumsetzungen. 90
 —, Fehler. 88
 —, Vorkommen von Bakterien. 74
 Kätscher, Wert zum Käferfang. 215
 Kainit, Bekämpfungsmittel gegen Distel. 201
 —, — — Drahtwürmer. 213
 —, — — Huflattich. 201
 Kainitdüngung, Bekämpfungsmittel gegen Drahtwürmer. 200
 Kakaobaum, Schädigung durch *Heliothrips aulmanni*. 132
 —, — — *Selenothrips decolor*. 132
 —, — — *Selenothrips rubrocinctus*. 132
 Kaliumarsenat, Bekämpfungsmittel gegen *Rhagoletis pomonella*. 130
 Kalk, Bekämpfungsmittel gegen Acker-schnecken. 201
 Kalkdüngung, Bedeutung für Kartoffel-schorf. 97
 Kamelie, Schädigung durch *Phyllosticta cameliae*. 98
 Kanada, Pflanzenschutzgesetze. 198
 Kapernstrauch, Schädigung durch *Pieris brassicae*. 146
 —, — — *Pieris rapae*. 146
 Karbolineum, Bekämpfungsmittel gegen *Psylla mali*. 129
 Kartoffel, Blattrollkrankheit, Anfälligkeit verschiedener Rassen. 155
 —, —, Wirkung auf die Keimungsenergie der Knollen. 156
 —, Einfuhrverbot in Kanada. 199
 —, Knolle, Infektion mit *Bacillus vulgatus*. 615
 —, —, — — *Bacterium putidum*. 617
 —, Preßsaft, Vorkommen bakterizider Stoffe. 618
 —, Schädigung durch *Armillaria mellea*. 156
 —, — — Drahtwürmer. 212
 —, — — *Phytophthora infestans* in Neu-Südwaes. 156
 —, — — *Psylliodes affinis*. 215
 —, Schorf, Bedeutung der Kalkdüngung. 97
 Kasein, Fällung durch *Gymnoascus confluentis*. 111
 Kaseoglutin, Vorkommen in Cheddarkäse. 90
 Kastanie, Gallenbildung durch *Eriophyes silvicola*. 169
 Katokalen Amerikas. 138
 Kentia, Schädigung durch *Glomerella cingulata*. 113
 Kiefer, Banks-, Schädigung durch *Tortrix buolina*. 136
 —, Schädigung durch *Lophodermium pini*. 136
 —, — — *Retinia buoliana*. 137
 —, — — Trockenheit. 136
 —, Schütte, Bekämpfung. 200
 —, —, Empfänglichkeit der Nachkommen verschiedener Samenbäume. 136

- Kiefer, Schütte durch Vertrocknung. 140
 —, Widerstandsfähigkeit gegen Trockenheit. 178
 —, Wildverbiß, Verhütung. 200
 Kiefernblattwespe, Auftreten. 137
 Kiefernrüsselkäfer, Bekämpfung. 200
 Kieferntriebwickler, Auftreten. 137
 Kirschbaum, Gummifluß, enzymatische Untersuchung. 130
 —, Schädigung durch Blattwespen. 187
 —, — — *Orchestes fagi*. 144
 —, — — *Rhagoletis cingulata*. 129
 —, — — *Rhagoletis fausta*. 129
 Kirschgummi, Vorkommen von Cytase. 130
 Klee s. a. *Trifolium*.
 —, Krebs durch *Mitula sclerotiorum*. 152
 —, — — *Sclerotinia trifoliorum*. 152
 —, Schädigung durch *Bryobia pratensis*. 152
 —, — — *Mitula sclerotiorum*. 152
 —, — — *Sclerotinia trifoliorum*. 152
 —, — — *Stictocephala festina*. 153
 —, — — *Stictocephala inermis*. 153
 —, — — *Stictocephala lutea*. 153
 Kleemilbe s. *Bryobia pratensis*.
 Kleidermotte, natürlicher Feind von *Bryobia pratensis*. 152
 Kochia prostrata, Schädigung durch *Uromyces kochiae*. 106
 Koeleria cristata, Schädigung durch *Puccinia koeleriae*. 108
 Kohl s. a. *Brassica oleracea*.
 —, Schädigung durch *Hellula undalis*. 207
 —, — — *Myzus persicae*. 131
 Kohlhernie s. a. *Plasmidiophora brassicae*.
 —, Bekämpfung mit Steinerschem Mittel. 207
 Kohlweißling, Auftreten, Wirkung der Trockenheit. 177
 Kolloide, Bedeutung für Biologie und Medizin. 82
 Kongo, belgischer, Pilzflora, Beiträge. 109
 Korkeiche, Schädigung durch *Crematogaster scutellaris*. 130
 Kräuselkrankheit des Pfirsichbaums, Bekämpfung mit Schwefelkalkbrühe. 198
 — — Weinstocks, Bekämpfung mit Polysulfidlösung. 209
 Kreosotöl, Holzkonservierung. 197
 Kroatien, Bedeutung von Eichenmehltau. 136
 Kunistera candida, Schädigung durch *Uropyxis petalostemontia*. 108
 Kupferbrühe, Bekämpfungsmittel gegen Mehltau des Weinstocks. 211
 Kupferkalkbrühe s. a. Bordeauxbrühe.
 —, Bekämpfungsmittel gegen amerikanischen Stachelbeermehltau. 207
 Kupfersulfat, Bekämpfungsmittel gegen Haferflugbrand. 203
 Kupfervitriol, Bekämpfungsmittel gegen *Fusarium*. 203
 —, — — *Helminthosporium*. 203
 —, — — Weizensteinbrand. 203
 Kursk, Mikromycetenflora, Beiträge. 105
 Lab, Ausscheidung durch *Bacillus fluorescens* und *B. mycoides*. 87.
 Laboulbenia antarcticae n. sp., Beschreibung. 116
 — asperula n. sp., Beschreibung. 116
 — — —, Vorkommen auf Tachys. 115
 — australis n. sp., Vorkommen auf Apenes. 115
 — blechri n. sp., Beschreibung. 116
 — blechsi n. sp., Vorkommen auf Blechras. 115
 — bonariensis n. sp., Vorkommen auf Argutor bonariensis. 115
 — chlaenii n. sp., Beschreibung. 116
 — dailodonti n. sp., Beschreibung. 116
 — elegantissima n. sp., Beschreibung. 116
 — funeralis n. sp., Vorkommen auf Gyrinus. 116
 — funeria n. sp., Beschreibung. 116
 — —, Vorkommen auf Anaedus. 115
 — flexata n. sp., Vorkommen auf Brachinus. 115
 — fuscata n. sp., Vorkommen auf Pterostichus. 115
 — granulosa n. sp., Vorkommen auf Argutor bonariensis. 115
 — hemipteralis n. sp., Vorkommen auf Velia platensis. 115
 — heteroceratis n. sp., Vorkommen auf Heteroceros. 116
 — inflecta n. sp., Vorkommen auf Galerita. 116
 — lacticae n. sp., Vorkommen auf Lactica varicornis. 115
 — lathropini n. sp., Vorkommen auf Lathropinus fulvipes. 115
 — leathi n. sp., Beschreibung. 116
 — leptostoma n. sp., Beschreibung. 116
 — lutescens n. sp., Vorkommen auf Argutor bonariensis. 115
 — marginata n. sp., Vorkommen auf Galerita lacordairii. 116
 — missionum n. sp., Beschreibung. 116
 — monocrepidii n. sp., Vorkommen auf Monocrepidius. 115
 — oedipus n. sp., Beschreibung. 116
 — oodis n. sp., Beschreibung. 116
 — platensis n. sp., Beschreibung. 116
 — sordida n. sp., Vorkommen auf Galerita. 116
 — subinflata n. sp., Vorkommen auf Argutor bonariensis. 115
 — veliae n. sp., Vorkommen auf Velia platensis. 115
 Laboulbeniaceen, auf Milben parasitierende. 114
 — Argentinien. 115
 Laboulbeniella dysonichae n. gen. et n. sp., Beschreibung. 116
 — homophoetae n. gen. et n. sp., Beschreibung. 116

- Laboulbeniella tucumanensis* n. gen. et n. sp., Beschreibung. 116
Lachnella fusco-cinnabarina n. sp., Vorkommen in Böhmen. 101
Lachnosterna, Schädigung durch Bakterien. 69
Lactica varicornis, Vorkommen von *Laboulbenia lacticae*. 115
Laemobothrium atrum, Vorkommen von *Trenomyces laemobothrii*. 115
Lärche s. *Larix europaea*.
 —, Schädigung durch *Argyresthia laerigatella*. 143. 191
 —, — — Trockenheit. 136
Laestadia bidwelli, Ausbreitung in Frankreich. 135
 — —, Biologie und Bekämpfung. 134
Lamium, Blütennektarien, Vorkommen von Hefe. 96
Laria rufimana, Schädling von Bohnen. 147
Larix europaea s. a. *Lärche*.
 — —, Schädigung durch *Peridermium laticis*. 143
 — *leptolepis*, Übertragung von Kiefern-mistel. 176
 — *occidentalis*, Schädigung durch *Polyporus berkeleyi*. 143
Larosan, Ersatz für Eiweißmilch. 89
Lathrobium nitidum, Vorkommen von *Corethromyces platensis*. 115
 — —, — — *Corethromyces platensis* var. *gracilis*. 115
Lathropinus fulvipes, Vorkommen von *Laboulbenia lathropini*. 115
 Laubbäume, Schädigung durch den Salzgehalt der Luft. 157
Laurocerasus lyonii, Gallenbildung durch *Bacterium tumefaciens*. 167
Lauseamia aenea, Aufzucht. 164
 Laykoschwefel, Bekämpfungsversuche gegen *Oidium*. 209
 — — — *Peronospora*. 209
 Layko-Trockenstaubpräparate, Bekämpfungsversuche gegen Traubenwickler. 209
Lecanium discrepans, Schädling von *Sesbania aegyptiaca*. 186
 — *hemisphaericum*, Schädling von *Flacourtia ramontchi*. 186
 — — — *Loranthus*. 186
 — *hesperidium*, Symbiose mit *Saccharomyces apiculatus* var. *parasitus*. 174
 — *oleae*, Symbiose mit *Saccharomyces apiculatus* var. *parasitus*. 174
 — *opimum* n. sp., Schädling von *Cassia fistula*. 185
Leeuwenia gladiatrix n. gen. et n. sp., Vorkommen in Gallen an *Eugenia polyantha*. 162
 Leinölseifenbrühe, Bekämpfungsmittel gegen austernförmige Schildlaus. 214
Lenzites betulina, Vorkommen. 94
 — *ochroleuca*, Beschreibung. 98
 — *reichardtii*, Vorkommen am Schwarzen Meer. 139
Lenzites tricolor, Vorkommen am Schwarzen Meer. 139
Leonurus cardiaca, Gallenbildung durch *Aphis*. 168
Lepidobremia n. gen. 162
 Lepidopteren, Gallenbildung an *Cynodon dactylon*. 170
Lepidosaphes beckii, *Hyperaspis lateralis* natürlicher Feind. 206
 — —, *Rhizobius lopanthae* natürlicher Feind. 206
 — —, *Scymnus sordidus* natürlicher Feind. 206
Leptonia davisiana n. sp., Vorkommen. 109
 — *submurina* s. *Rhodophyllus submurinus*.
Leptoscyphus anomalus, Gallenbildung. 168
Leptosphaeria tritici, Vorkommen auf fußkrankem Weizen. 64
Leptostromella scirpina n. sp., Vorkommen. 109
Leptotaenia multifida, Schädigung durch *Comaclathris lanata*. 108
Leptothrips constrictus n. sp., Vorkommen in Gallen an *Ficus*. 162
 — (?) *reticulatus* n. sp., Vorkommen an *Ficus carnosae*. 163
Leptothyrium hrubyi n. sp., Vorkommen in Böhmen. 101
 — *sullae* n. sp., Schädling von *Hedysarum coronarium*. 150
Letendreaa eurotioides, Vergesellschaftung mit *Coniothyrium eurotioides*. 587
 — — — *Helminthosporium macrocarpum*. 587
 — —, Vorkommen auf *Alnus glutinosa*. 587
 — — — *Prunus*. 587
 — — — *Ribes rubrum*. 587
 — — — *Rubus fruticosus*. 587
 — — — *Salix*. 587
Lethrus apertus, Vorkommen von *Rhizoglyphus crassipes* in den Nestern. 154
Leucania andereggii, Färbung. Wirkung verschiedener Temperaturen auf die Puppen. 192
 — —, Schädling von *Briza media* var. *major*. 192
 — — — *Dactylis glomerata*. 192
 — — — *Deschampsia caespitosa*. 192
Leucaspis pini, Schädling von *Pinus*. 103
Leucin, Vorkommen in Cheddarkäse. 90
Leucocoprinus dolichaulos var. *cryptocyclus* n. var., Vorkommen auf dem Boden. 107
 — *molybdites*. 108
Leucojum vernum, Schädigung durch *Urocystis leucoji*. 101
Leucopezis excipulata, Vorkommen auf dem Boden. 108
Lezithin, Vorkommen in *Saccharomyces ellipsoideus*. 695
 Licht, Wirkung auf die Keimung der Samen von *Arceuthobium oxycedri*. 710

- Ligustrum vulgare*, Schädigung durch
Glomerella cingulata. 113
 —, Vorkommen von *Zopfia boudieri*. 111
Liliaceen, Schädigung durch Blattwespen. 187
Lilium candidum, Schädigung durch *Uromyces lilii*. 98
Limnanthemum, Schädigung durch *Parodiella congregata*. 110
Linaria vulgaris, Gallenbildung durch *Contarinia linariae*. 169
Linde s. a. Tilia europaea.
 —, Gallenbildung durch *Eriophyes tiliae*. 169
 —, — — *Eriophyes tiliae* var. *liosoma*. 169
 —, Wirkung von Trockenheit. 177
Lindenholz, Zersetzung durch Hauschwamm. 95
Linochorella striiformis n. gen. et n. sp.,
 Schädling von *Heteropogon*. 110
Linum usitatissimum, Schädigung durch
Cuscuta epilinum. 103
Liogryllus bimaculatus, Schädling von
Baumwollstaude. 180
Liothrips brevitubus n. sp., Gallenbildung
 an *Mallotus repandus*. 162
 — *longirostris* n. sp., Vorkommen in
 Gallen an *Melastoma polyanthum*. 162
Lipeurus baculus, Vorkommen von *Trenomyces circinans*. 115
 — *celer*, Vorkommen von *Trenomyces lipeuri*. 114
 — *longipilus*, Vorkommen von *Trenomyces gibbus*. 115
Lispinus tenellus, Vorkommen von *Rickia lispini*. 115
Lixus junci, Bekämpfung. 155
Löwenzahn, Wirkung der Trockenheit. 177
Löwodiplosis n. gen., Untergattung von
Clinodiplosis. 166
Lonicera, Schädigung durch *Phytomyza xylostei*. 181
 — *caprifolium*, Gallenbildung durch *Siphocoryne xylostei*. 165
 — *italica*, Gallenbildung durch *Siphocoryne xylostei*. 165
 — *perichyenum*, Gallenbildung durch
Siphocoryne xylostei. 165
Lonicera sempervirens, Gallenbildung durch
Siphocoryne xylostei. 165
Lophodermium pini, Schädling von Kiefern. 136
Lophozia alpestris, Gallenbildung. 168
 — *floerkei*, Gallenbildung. 168
 — *quinque dentata* Gallenbildung. 168
 — *ventricosa*, Gallenbildung. 168
Loranthus, Schädigung durch *Dactylopius citri*. 186
 —, — — *Lecanium hemisphaericum*. 186
 — *pentandrus*, Gallenbildung durch *Dolerothrips crassicornis*. 162
Lorbeerbaum, Schädigung durch den Salzgehalt der Luft. 137
Lotus corniculatus, Schädigung durch
Uromyces loti. 98
 Luft, Bakteriengehalt in Schulräumen. 71
 —, — — Straßen. 71
 —, Salzgehalt, Schädigung von Laubbäumen. 137
Lupine, Schädigung durch *Etiella zinckenella schisticolor*. 207
 —, — — *Pegomya planipalpis*. 207
 —, Wirkung von Mangansulfat. 161
Lupinus hirsutus, Schädigung durch *Uromyces renovatus*. 107
Luxemburg, Rebblausbekämpfung. 574
Luzerne s. a. Medicago sativa.
 —, Schädigung durch *Duronia fracta* subsp. *kalmyka*. 180
 —, — — *Phytonomus variabilis*. 153
 —, — — *Rhizoctonia violacea*. 153
 —, — — *Stictoccephala festina*. 153
 —, — — *Stictoccephala inermis*. 153
 —, — — *Stictoccephala lutea*. 153
Lysin, Vorkommen in Cheddarkäse. 90
Lythrum, Schädigung durch Blattwespen. 187
 — *salicaria*, Vorkommen von *Coremiella cystopoides*. 99
Macaranga tanarius, Vorkommen von *Dolichothrips brevicornis*. 163
 — — — *Dolichothrips longicollis*. 163
 — — — *Rhynchothrips tenuirostris*. 163
Machatothrips braueri n. sp., Vorkommen in Kamerun. 163
Macrophoma, Ambrosiapilz. 46
 — *anthurii* n. sp., Vorkommen auf *Anthurium hookeri*. 148
 — *burserae* n. sp., Vorkommen. 109
 — *mantegazziana*, Schädling von *Citrus limonum*. 102
 — *numerosa* n. sp., Schädling von *Robinia pseudacacia*. 109
 — *onobrychidis* n. sp., Schädling von *Onobrychis sativa*. 98
Macrocheles, Vorkommen von *Rickia pulchra*. 114
Macrosporium, Schädling von *Asparagus officinalis*. 103
 —, — — *Solanum lycopersicum*. 103
 —, — — *Vicia*. 103
 — *calycanthi*, Schädling von *Calycanthus*. 103
 — *pelargonii*, Schädling von *Pelargonium zonatum*. 103
Magnesia-Karbonat, Wirkung auf die Nitratreibung im Boden. 577
Magnesium, Wirkung auf die Ammoniakbildung im Boden. 519
Malmeomyces pulchella, besser *Calonectria pulchella*. 593
Mahagoniholz, Widerstandsfähigkeit gegen Hauschwamm. 95
Mäglöckchen, Schädigung durch *Botrytis vulgaris*. 148

- Mais s. a. *Zea mays*.
 —, Schädigung durch *Aspergillus glaucus* 102
 —, — — *Eurotium herbariorum*. 102
 —, — — *Ustilago maydis*. 102
 Maisbrand, Sporen, Vorkommen von Tri-
 methylamin. 123
 Malbranchea pulveracea, Vorkommen. 80
 Mallotus repandus, Gallenbildung durch
 Liothrips brevitubus. 162
 — —, —, Vorkommen von Neoheegeria
 mendax. 162
 Malmeomyces pulchella, Vorkommen auf
 Bambus. 593
 Malus silvestris, Schädigung durch Glome-
 rella cingulata. 113
 Malva, Schädigung durch Puccinia malva-
 cearum. 103
 Mangan, Bedeutung für die Sporenbildung
 von Aspergillus niger. 80
 Mangansulfat, Wirkung auf Lupinen. 161
 Mangifera, Schädigung durch Glomerella
 cingulata. 113
 — indica, Schädigung durch Phyllosticta
 mortoni. 96
 Mannit, Wirkung auf Hefe. 532
 Manotes glaber, Schädigung durch Gibbera
 tinctoria. 114
 Maranta arundinacea, Schädigung durch
 Glomerella cingulata. 113
 Marienkäfer, Bekämpfungsversuche an
 Heu- und Sauerwurm. 212
 Marssonia, Zugehörigkeit zu Gnomonia. 119
 — juglandis, Schädling von Juglans regia.
 102
 — kirchneri n. sp., Beziehung zu Fusicla-
 dium depressum var. petroselini. 117
 — — —, Schädling von Anethum
 graveolens. 147
 Marumba sperchius, Schädling von Stercu-
 liaceen. 181
 Maserkropf der Rotbuche. 161
 Matricaria inodora, Gallenbildung durch
 Ceuthorrhynchus. 168
 — —, — — Trypeta stellata. 168
 Maulwurfsgrippe, Bekämpfung. 215
 Medicago, Schädigung durch Rhizoctonia
 violacea. 103
 —, Schädigung durch Ascochyta imper-
 fecta. 109
 Medicago sativa s. a. Luzerne.
 — —, Schädigung durch Cuscuta epithy-
 mum. 103
 — —, — — Pleosphaerulina briosiana.
 103
 — —, — — Pseudopeziza medicaginis.
 103
 — —, — — Uromyces striatus. 103
 — varia, Gallenbildung durch Contarinia
 medicaginis. 167
 Megisthanus, Vorkommen von Rickia
 megisthani. 114
 Mehltau des Weinstocks, Bekämpfung mit
 Kupferbrühe. 211
 Melampsora arctica, Übertragung von
 Salix auf Abies balsamea. 117
 — lini, Vorkommen. 109
 — medusae, Schädling von Populus del-
 toides. 108
 — —, Übertragung von Populus grand-
 dentata auf Tsuga canadensis. 117
 Melampyrum nemorosum, Gallenbildung
 durch Thrips kroli. 167
 Melanconiales, Untersuchung. 119
 Melanconium czerniaiewi n. sp., Schädling
 von Eichen. 106
 Melandryum album, Vergrünung. 157
 Melanoleuca, neue Arten. 114
 Melanophthalma, Vorkommen von Rickia
 melanophthalmae. 115
 Melanotaenium, Vorkommen in Böhmen.
 100
 Melanoxanthium rufulus, Vorkommen in
 Californien. 184
 Melasmia caragana, Beschreibung. 105
 Melastoma, Schädigung durch Chaerocam-
 pa suffusa. 181
 — polyanthum, Gallenbildung, Vorkom-
 men von Liothrips longirostris. 162
 Melia azedarach, Schädigung durch Phyl-
 lachora meliae. 108
 Melica ciliata, Schädigung durch Puccinia
 trebouxii. 106
 — —, — — Ustilago trebouxii. 106
 Meligethes aeneus, Bekämpfung mit Blei-
 arsenat. 215
 — —, Biologie und Bekämpfung. 215
 Melone, Schädigung durch Porosagrotis
 vetusta. 147
 Melonomma medium var. calligoni n. var.,
 Schädling von Calligonum erinaceum.
 105
 Menopon mesoleucum, Vorkommen von
 Trenomyces histophorus. 114
 Merodon equestris, Einschleppung mit
 Zwiebeln nach Finnland. 187
 — —, Schädling von Habranthus pratens-
 sis. 148
 — —, — — Hippeastrum. 148
 — —, — — Vallota. 148
 Meroneva sharpi, Vorkommen von Dimor-
 phomyces meronevae. 115
 Merulius, Beschreibung. 94
 — lacrymans, Vorkommen auf Eichenholz.
 94
 — —, — von Zellulose dextrinase. 93
 — rubellus, Vorkommen. 94
 — sclerotiorum, Auftreten. 94
 Mesoplatypus grandiclava n. gen. et n. sp.,
 Vorkommen im Kongo. 190
 Mespilus germanica, Schädigung durch
 Entomosporium mespili. 102
 Metalasia, Schädigung durch Aecidium
 metalasiae. 110
 Meta-Oxybenzoësäure, Kohlenstoffquelle
 für Penicillium glaucum. 649
 Metasphaeria albescens, Schädling von Reis.
 124

- Meteorus ictericus*, natürlicher Feind von *Anthonomus pomorum*. 215
Micrasterias, Wirkung von Calciumhypochlorid auf die Entwicklung. 73
Micrella monelli n. gen. et n. sp., Schädling von *Salix laevigata*. 184
 — — — — —, — — *Salix lasiolepis*. 184
Micrococcus, Erreger der Rotfärbung gesalzener Kabeljaus. 398
 —, Purpurfärbung. 529
 — *litoralis*, Erreger der Rotfärbung des Kabeljaus. 399
 — *nigrofaciens*, Schädling der Larven von *Allorhina nitida*. 72
 — — — — — *Periplaneta americana*. 70
 — *pyogenes* β *citreus*, Wirkung von Gelatine verschiedener Konzentration. 559
Microcera tonduzii n. sp., Vorkommen auf Cocciden. 109
Microsphaera astragali, Konidienbildung, Cytologie. 132
Microtus niddendorfi, Schädigung durch *Amphipsilla kuznetzovi*. 170
 Mikroorganismen, chlorophyllführende, Reinkultur. 193
 Mikroskop, Anwendung. 193
 Mikrosol, Wert als Holzkonservierungsmittel. 198
 Milben, parasitische Laboulbeniaceen. 114
 Milch, Alkalität, Beziehung zur Peroxydase. 89
 —, —, — zum spezifischem Gewicht. 89
 —, Aromabildung durch *Bacillus fluorescens* mit *B. megatherium*. 87
 —, — — — — *B. mycoides*. 87
 —, — — — — *Streptococcus lacticus*. 87
 —, Bakteriengehalt, Bedeutung des Streumaterials. 86
 —, bakteriologische Untersuchung. 85
 —, — —, Methodik. 71
 —, Beurteilung ohne Inkubation. 71
 —, Eiweiß-, Ersatz durch Larosan. 89
 —, Fehlen von Säurebildnern. 86
 —, Fehler. 86
 —, hygienische Gewinnung, Bedeutung der Futtermittel. 582
 —, Konserven-, verdorbene, veränderter Klang der Dosen. 87
 —, Mohrrübengeruch durch *Bacillus fluorescens*. 86
 —, Peroxydase, Beziehung zur Alkalität. 89
 —, sanitäre Beschaffenheit, Beurteilung ohne Inkubation. 71
 —, spezifisches Gewicht, Beziehung zur Alkalität. 89
 —, Vorkommen von Bakterien. 86. 87
 Milchglanz der Obstbäume, Ursache und Bekämpfung. 206
 — des Pflaumenbaumes durch *Stereum purpureum*. 131
 Milchsäureensilage, Methode. 261
Mimeomyces decipiens n. gen. et n. sp., Vorkommen auf *Quedius soreceophalus*. 115
 Mistel, Apfel-, Übertragung auf Weiden. 176
 —, ernährungsphysiologische Rassen. 176
 —, Kiefern-, Übertragung auf *Cedrus atlantica*. 176
 —, —, — — *Larix leptolepis*. 176
 —, Linden-, Übertragung auf Apfelbaum. 176
 —, — — — *Corylus*. 176
Mitosoma chapuisi n. sp., Vorkommen in Madagaskar. 139
Mitrula sclerotiorum, Schädling von Klee. 152
Mnium punctatum, teratologische Bildung. 159
Molinia coerulea, Bekämpfung in Kiefern-kulturen. 200
Monarthropalpus buxi, Bekämpfung mit Schwefelblüte. 211
Monellia californicus n. sp., Unterschied von *M. caryae*. 184
Monilia bombycis n. sp., Vorkommen auf *Gastropacha pini*. 201
 — *candida*, besser *Oospora arthuri*. 79
 — *cerasi*, Zugehörigkeit zu *Oospora*. 79
 — *cinerea*, Schädling von Schattenmorelle. 127
 — —, Zugehörigkeit zu *Oospora*. 79
 — —, Überwinterung der Sporen. 126
 — *fructigena*, Infektion von Schattenmorelle. 127
 — —, Schädling von *Cydonia vulgaris*. 102
 — —, — — Obstbäumen. 126
 — —, — — *Pirus communis*. 102
 — —, Zugehörigkeit zu *Oospora*. 79
 — *fungicola*, Zugehörigkeit zu *Oospora*. 79
 — *linhartiana*, Zugehörigkeit zu *Oospora*. 79
 — *pulveracea* s. *Malbranchea pulveracea*. 80
Monobremia n. gen. 162
Monocrepidius, Vorkommen von *Laboulbenia monocrepidii*. 115
Monoicomyces caloderae n. sp., Vorkommen auf *Calodera*. 115
 — *infuscatus* n. sp., Beschreibung. 116
 — —, Vorkommen auf *Xantholinus andinus*. 115
Mononchus muscorum, Vorkommen im Schleimfluß von *Fagus silvatica*. 186
Moricandia arvensis var. *suffruticosa*, Gallenbildung durch *Baris parsina*. 170
 — — — —, — — Dipteren. 170
 — *cinerea*, Gallenbildung durch *Cystopus candidus*. 170
Morus, Schädigung durch *Armillaria mellea*. 103
 —, — — *Phyllosticta osteospora*. 102
 —, — — *Pleospora maculans*. 103
 —, — — *Septogloeum mori*. 102

- Morus*, Schädigung durch *Volvaria volvacea*. 103
 — *alba*, Schädigung durch *Coryneum mori*. 132
 — — — — *Phoma nipponia*. 132
 Moskau, Pilzflora. 106
 Mostprotease, Beziehung zur Traubenreife. 480
 —, Verhalten bei der Gärung. 498
 —, Wirkung verschiedener Chemikalien. 495
 Mottenschildlaus an Citrusbäumen, Bekämpfungsversuche durch Verbreitung parasitischer Pilze. 206
 Mongeotia, Wirkung von Calciumhypochlorid auf die Entwicklung. 73
Mucor boidin, Rhodanverbindungen als Stickstoffquelle. 77
 — —, Schwefelwasserstoffbildung aus Rhodanverbindungen. 78
 — *hiemalis*, + und — Form, Untersuchung. 80
 — *mucedo*, Fruktifikation, Wirkung der Transpiration. 78
 — *racemosus*, Fruktifikation, Wirkung der Transpiration. 78
Musa paradisica sapientium, Schädigung durch *Gloeosporium musarum*. 113
 Muscardine, Vorkommen auf *Gastropacha pini*. 201
Mutinus bambusinus. 98
 Mutterkorn s. a. *Claviceps purpurea*.
 —, verschiedene Größe der Sclerotien. 122
Mycena, Zugehörigkeit von *Agaricus microcarpus*. 108
Mycetodiplosis n. gen., Untergattung von *Clinodiplosis*. 166
Mycocallis alni, Vorkommen in Californien. 184
Mycosphaerella, Bezeichnung für Pilze der Gattung *Sphaerella*. 118
 — *jaczewskii* n. sp., Vorkommen auf *Phleospora caraganae*. 105
Mycosphaerella violae n. sp., Schädling von *Viola hirta*. 105
Mycosphaerella shiraiana n. sp., Schädling von Reis. 124
Mycosyrinx, Zugehörigkeit von *Ustilago osmundae* var. *cinnamomeae*. 109
 — *cissi*, Vorkommen. 109
 Mykoplasmatheorie, Kritik. 117. 118
 Mykorrhiza, Bildung durch *Boletus*arten. 120
 Mykorrhiza an *Asarum europaeum*. 173
Myopites limbardae, Gallenbildung an *Inula viscosa*. 162
Myrioconium scirpi, Identität mit *Sphaerelia scirpicola*. 120
Myrmecodia tuberosa, Ameisenpilz, Untersuchung. 172
 — —, Vorkommen von *Camponotus maculatus* var. *pallidus*. 172
Myxosporium, Zugehörigkeit zu *Anthostomella* u. *Diaporthe*. 119
Myzus persicae, *Aphidius* natürlicher Feind. 131
 — —, Bekämpfung mit Tabakextraktseifenlösung. 131
 — —, *Chilomenes lunatus* natürlicher Feind. 131
 — —, Schädling von Kohl. 131
 — —, — vom Pfirsichbaum. 131
 — —, — vom Rettich. 131
 — —, — Rüben. 131
 — *ribis*, Gallenbildung an *Johannisbeerstrauch*. 169
Navicula, Wirkung von Calciumhypochlorid auf die Entwicklung. 73
Nectria appendiculata, Identität mit *Ciliomyces oropensis*. 603
 — *aurea-fulva*, Beziehung zu *N. ochroleuca*. 609
 — *balansae*, Beschreibung. 610
 — *chrysolepis* n. sp., Vorkommen auf *Cocciden*. 108
 — *congesta*, Beziehungen zu *Nectria ochroleuca*. 608
 — *cucurbitula* f. *alnicola*, Identität mit *Nectria punicea*. 601
 — — var. *meizospora*, Identität mit *Nectria discophora*. 601
 — *cylindrospora*, Identität mit *Ophionectria cylindrospora*. 598
 — *ditissima*, Gesetz zur Verhütung der Einschleppung nach Kanada. 199
 — *gallifera* n. sp., Vorkommen auf *Cocciden*. 108
 — *guaranitica*, Identität mit *Nectria diploa*. 608
 — *nelumbicola*, Identität mit *Nectria mammoidea*. 607
 — *noackiana*, Beziehung zu *N. guarapiensis*. 610
 — *ochracea*, Identität mit *Nectria cinnabarina*. 604
 — *punctum*, Identität mit *Coleroa bryophila*. 612
 —, *ribis*, Identität mit *Nectria cinnabarina*. 605
 — *rosellini*, Identität mit *Ophionectria cylindrospora*. 598
 — *rousseauana*, Beziehung zu *N. cinnabarina*. 609
 — *subfurfuracea*, Identität mit *N. balansae*. 611
 — *tasmanica*, Beziehung zu *Nectria mammoidea*. 607
 — *viridula* n. sp., Vorkommen auf *Cocciden*. 108
Nectriella cucumeris n. sp., Schädling von Gurken. 147
Negundo aceroides, Schädigung durch *Thomasia negundinis*. 184
 Nelke, Schädigung durch *Uromyces caryophyllinus*. 103
 Nematoden (?), Gallenbildung an *Polygonum persicaria*. 170

- Nematogonum*, Zugehörigkeit zu *Physospora*. 81
Neochrysocharis albipes n. gen. et n. sp., natürlicher Feind von *Pimpla graminella* 213
— *immaculatus* n. gen. et n. sp., natürlicher Feind von *Oscinella frit*. 213
Neofabrea, Zugehörigkeit von *Gloeosporium*. 119
Neoheegeria mendax n. sp., Vorkommen in Gallen an *Mallotus repandus*. 162
— — — — — *Schoutenia ovata*. 162
Neovossia, Vorkommen in Böhmen. 100
Nephrolepis cordifolia, Schutzvorrichtung gegen Vertrocknung. 177
Nerium oleander, Schädigung durch *Aspidiotus nerii*. 103
Neuroterus flaviventris s. *Pamphilus flaviventris*.
— *lenticularis*, Gallenbildung an Eiche. 169
Neu-Süd-Wales, Schädigung von Kartoffeln durch *Phytophthora infestans*. 156
Nicotiana tabacum, Schädigung durch *Aspergillus glaucus*. 103
Nikotinpräparate, Bekämpfungsversuche gegen Traubenwickler. 209
Nirmus maritimus, Vorkommen von *Trenomyces*. 114
— *olivaceus*, Vorkommen von *Trenomyces*. 114
— *punctatus*, Vorkommen von *Trenomyces*. 114
Nitrat, Bildung im Boden, Beziehung zur Ertragsfähigkeit. 65
—, — — —, Wirkung von Calciumkarbonat. 577
—, — — —, — — — *Magnesia-Karbonat*. 577
—, — — — im Frühjahr. 92
Nitrate, Vorkommen in Pflanzen. 195
—, Zersetzung durch Thiosulfat-Bakterien. 412. 417
Nitrite, Vorkommen in Pflanzen. 195
Nonne, Auftreten in Ostpreußen. 192
Nordamerika, Gallmücken der westlichen Staaten. 166
Norwegen, massenhaftes Auftreten von *Gastropacha pini*. 201
Obstbäume, Milchglanz durch *Stereum purpureum*. 131
—, —, Ursache und Bekämpfung. 206
—, Schädigung durch *Alsophila pometaria*. 128
—, — — *Aphis persicae*. 102
—, — — *Aphis piri*. 102
—, — — *Argyresthia*. 191
—, — — *Argyresthia conjugella*. 129
—, — — Blattwespen. 187
—, — — *Cheimatobia brumata*. 128
—, — — *Clasterosporium amygdalearum*. 101
Obstbäume, Schädigung durch *Coniothecium chromatosporum*. 126
—, — — *Coniothyrium tirolense*. 101
—, — — *Crematogaster scutellaris*. 130
—, — — *Exoascus deformans*. 102
—, — — *Fusicladium dendriticum*. 102. 126
—, — — *Gloeosporium fructigenum*. 126
—, — — *Gymnosporangium juniperinum*. 101
—, — — *Hyponomeuta malinella*. 102
—, — — *Monilia cinerea*. 127
—, — — *Monilia fructigena*. 102. 126
—, — — *Myzus persicae*. 131
—, — — Ohrwürmer. 181
—, — — *Oidium leucoconium*. 101
—, — — *Orchestes fagi*. 144
—, — — *Paleacrita vernata*. 128
—, — — *Phyllosticta cydonicola*. 102
—, — — *Phyllosticta persicae*. 102
—, — — *Phytoptus piri*. 101
—, — — *Polyporus hispidus*. 104
—, — — *Psylla mali*. 129
—, — — *Rhagoletis cingulata*. 129
—, — — *Rhagoletis fausta*. 129
—, — — *Rhagoletis pomonella*. 130
—, — — *Schizoneura lanigera*. 102
—, — — *Septogloeum cydoniae*. 102
—, — — *Sphaeropsis malorum*. 102
—, — — *Taphrina bullata*. 130
—, — — *Taphrina deformans*. 130
—, — — *Trichothecium roseum*. 101
—, Schutz gegen Wildverbiß. 204
—, Vorkommen von *Polyporus caudicium*. 104
—, Wirkung von Trockenheit. 177
—, Zweigdürre durch Bakterien. 126
Odontopharynx longicaudata n. gen. et n. sp., Vorkommen in erkrankten Hyazinthenzwiebeln. 148
Oecanthus nigricornis, Eiablage. 127
— *niveus*, Eiablage. 127
— *quadripunctatus*, Eiablage. 127
Oecophylla smaragdina, Symbiose mit *Hypolycaena erylus*. 173
Oedocephalum, Zugehörigkeit zu *Botrytiden*. 81
Oedogonium, Wirkung von Calciumhypochlorid auf die Entwicklung. 73
Oenanthe crocata, Schädigung durch *Uromyces scirpi*. 103
Österreich, Rebblausbekämpfung. 575
Ohrwurm, Schädling von Dahlien. 181
—, — des Pfirsichbaumes. 181
—, Vertilgung durch Hühner. 181
Oidium, Bekämpfungsversuche mit Azurin. 209
—, — — Laykoschwefel. 209
—, — — Pulvazuro. 209
—, Erreger von Flecken an Butter. 88
— *aureum*, Vorkommen. 79
— *erysiphoides*, Schädling von *Cucurbita pepo*. 103
—, — — *Humulus lupulus*. 102

- Oidium erysiphoides*, Schädling von *Spiraea ulmaria*. 103
 — — — *Trifolium*. 102
 — — — Vorkommen. 109
 — *evonymi japonicae*, Schädling von *Evonymus japonica*. 103
 — *hormyni*, Schädling von *Salvia*. 103
 — *lactis*, Wirkung von Brom und Jod. 196
 — — — Zugehörigkeit zu *Oosporoidea*. 79
 — *leucoconium*, Schädling von *Prunus persica*. 101
 — *megalosporum*, Vorkommen. 79
 — *murrilliae* n. sp., Vorkommen. 79
 — *quercinum* s. a. Eichenmehltau. 103
 — — — Schädling von *Quercus*. 103
 — — — Vorkommen in Ungarn. 116
 — *simile*, Vorkommen. 79
 — *tuckeri*, Auftreten und Verbreitung. 207
 — — — Schädling des Weinstocks. 101
Olea dioica, Schädigung durch *Cystospora oleae*. 118
 — *europaea*, Schädigung durch *Dacus oleae*. 102
 — — — — *Dematophora necatrix*. 102
 — — — — *Prays oleellus*. 102
 — *fragrans*, Schädigung durch *Diplodia*. 103
 Olivenbaum, alter, Vorkommen von *Tor-neuma karamani*. 132
Olpidium borzii, Beziehung zu *Pleotra-chelus*. 145
 — *brassicae*, Cytologie. 145
 — — — Vergesellschaftung mit *Plasmodio-phora brassicae*. 145
Onobrychis sativa, Schädigung durch *Ma-crophoma onobrychidis*. 98
Onoclea sensibilis, Infektionsversuche mit *Peridermium balsameum*. 117
 — — — Übertragung von *Uredinopsis mira-bilis* auf *Abies balsamea*. 117
 — *struthiopteris*, Infektion mit *Perider-mium balsameum* von *Abies balsamea*. 117
 — — — Übertragung von *Uredinopsis stru-thiopteridis* auf *Abies balsamea*. 117
Oospora, Zugehörigkeit von *Hemispora stellata*. 82
 — — — der Monilien. 79
 — — — von *Torula epizoa*. 82
 — *candidula*, Zugehörigkeit zu *Toruloidea*. 79
 — *cuboidea* s. *Geotrichum cuboideum*.
 — *favorum*, Vorkommen an Bienen-stöcken. 95
 — *nicotianae*, Zugehörigkeit zu *Toruloidea*. 79
 — *tulipiferae*, Zugehörigkeit zu *Toruloidea*. 79
Oosporoidea n. gen., Zugehörigkeit von *Oidium lactis*. 79
Ophioglossa, Vorkommen von *Cantharo-mycetes ophioglossae*. 115
Ophiobolus, Vorkommen in Finnland. 122
 — *herpotrichus*, Sporenkeimung. 51
Ophiobolus herpotrichus, Vorkommen auf fußkrankem Weizen. 64
 — — — Zugehörigkeit von *Acremonium alternatum*. 60
 — *oryzae*, Schädling von Reis. 124
Ophitis fanvelii, Vorkommen von *Core-thromyces ophitis*. 115
Ophrydeen, Vorkommen einer pilztötenden Substanz in den Knollen. 172
Ophrys apifera var. *friburgensis*, abnorme Blütenbildung. 157
 — *bottoroni*, abnorme Blütenbildung. 157
Oplismenus hirtellus, Schädigung durch *Septoria caricerae*. 96
Opuntia, Schädigung durch *Copestylum marginatum*. 151
 — — — *Hermetia*. 151
 — — — *Stictomyia longicornis*. 151
 — *blakeana*, Verpflanzung von *Cissus la-ciniata* auf dieselbe. 176
Opuntie, Schädigung durch Wolläuse. 214
Opuntia chimochyla, Reaktion auf Blatt-lausstiche. 309
 Orangenbaum, Schädigung durch *Aley-rodes citri*. 128
 — — — *Aleyrodes giffardi*. 128
 — — — *Aleyrodes marlatti*. 128
 — — — *Pleospora catumensis*. 131
Orchestes fagi, Schädling von Beeren-sträuchern. 144
 — — — vom Blumenkohl. 144
 — — — von *Fagus silvatica*. 143
 — — — vom Kirschbaum. 144
Orobanche crenata, Bekämpfung. 175
Orthokresotinsäure, Wirkung auf die Ent-wicklung von *Penicillium glaucum*. 652
Orthopteren Transkaspens. 180
Oscillatoria splendida, Wirkung von Cal-ciumhypochlorid auf die Entwicklung. 73
 — *tenuis*, Wirkung von Calciumhypo-chlorid auf die Entwicklung. 73
Oscinella frit, *Gyrocampa pospelovi* natür-licher Feind. 213
 — — — *Neochrysocharis immaculatus* n. gen. et n. sp. natürlicher Feind. 213
 — — — *Rhoptromeris windhalmi* natür-licher Feind. 213
Osmanthus fragrans, Schädigung durch *Phyllosticta osmanthicola*. 148
Osmunda claytoniana, Infektionsversuche mit *Peridermium balsameum*. 117
Osorius sexpunctatus, Vorkommen von *Scelophoromyces osorianus*. 116
 Ostpreußen, Flechtenflora, Beiträge. 110
 Ostseeprovinzen, Pilzflora, Beiträge. 106
Osyridocarpus natalensis, Schädigung durch *Aecidium osyridocarpi*. 114
 — — — *Puccinia pulvinata*. 114
Otiorhynchus rotundatus, Schädling von *Syringa*. 149
 — *singularis*, Bekämpfung mit *Bleiar-se-nat*. 129
 — — — Schweinfurtergrün. 129

- Otthia symphoricarpi*, Schädling von *Symphoricarpus occidentalis*. 108
Ovularia avicularis n. sp., Schädling von *Polygonum aviculare*. 109
— *obliqua*, Schädling von *Rumex*. 102
— *ovata*, Schädling von *Salvia pratensis*. 103
Oxalis corniculata, Schädigung durch *Aleyrodes shizuokensis*. 128
Oxycoccus macrocarpus, Schädigung durch *Glomerella cingulatus*. 113
Oxytropis pilosa, Schädigung durch *Grapholitha oxytropidis*. 151
Pachymerus chinensis, Bekämpfung mit Blausäure und Schwefelkohlenstoff. 152
— —, Schädling von Futterpflanzen. 152
Pachythrips phaeoptera n. sp., Vorkommen in Galizien. 167
Pachytylus domicus, Auftreten. 180
— *migratorius*, Auftreten. 180
Paeonie, Schädigung durch *Cronartium flaccidum*. 135
Paleacrita vernata, Kreuzung mit *Alsophila pometaria*. 128
— —, Schädling von Obstbäumen. 128
Pamphilus flaviventris, Schädling von *Crataegus*. 145
Panax quinquefolium, Schädigung durch *Alternaria panax*. 125
— —, — — *Heterodera radicicola*. 125
— —, — — *Pythium debaryanum*. 125
— —, — — *Phytophthora cactorum*. 125
— —, — — *Rhizoctonia*. 125
— —, — — *Sclerotinia libertiana*. 125
— —, — — *Sclerotinia panacis*. 125
— —, — — *Thielavia basicola*. 125
Paneolus helvolus, Fruchtkörper, Abscheidung von Flüssigkeit. 118
Panicum, Schädigung durch *Ustilago vastatoria*. 114
— *frumentaceum*, Schädigung durch *Ustilago paradoxa*. 118
— *miliaceum*, Schädigung durch *Sphacelotheca panici miliacei* in Böhmen. 99
— —, — — *Ustilago panici miliacei*. 108
— *viridis*, Schädigung durch *Sclerospora graminicola*. 108
Papaver rhoeas, abnorme Bildung. 160
— *thaumasiosepalum*, abnorme Blütenbildung. 159
Pappel s. a. *Populus*.
—, Gallenbildung durch *Phyllocoptes populi*. 169
—, Schädigung durch *Angelica tyrrhea*. 143
—, — — Trockenheit. 136
Paranüsse, Vorkommen von *Cunninghamella bertholletiae*. 79
Para-Oxybenzoesäure, Kohlenstoffquelle für *Penicillium glaucum*. 649
Parnus, Vorkommen von *Cantharomyces permasculus*. 115
Parnus, Vorkommen von *Cantharomyces platensis*. 115
Parodiella congregata n. sp., Schädling von *Limnanthemum*. 110
Parum colligata, Schädling von *Broussonetia*. 181
Paxillus microsporus n. sp., Vorkommen. 109
Pedicularis racemosa, Schädigung durch *Sirocyphus nivea*. 108
Pediculoides gramineus, Schädling von Quecke. 179
— *ventricosus*, natürlicher Feind von *Phthorimaea operculella*. 214
Pegomyia planipalpis, Bekämpfung durch Saatgutbehandlung mit Schwefelkohlenstoff. 207
— —, Schädling der Erbse. 207
— —, — — Lupine. 207
Pelargonium zonatum, Schädigung durch *Macrosporium pelargonii*. 103
Pemphigus acerifolii s. *Prociphilus tessellata*
— *californicus*, Schädling von *Ranunculus californicus*. 184
— *imaicus* n. sp., Gallenbildung an *Populus ciliata*. 170
— *mordwilkoii* n. sp., Gallenbildung an *Populus ciliata*. 170
— *nainitalensis* n. sp., Gallenbildung an *Populus ciliata*. 170
— *populicaulis*, Gallenbildung an *Populus monilifera*. 184
— —, — — *Populus tremuloides*. 184
— *populimonilis*, Gallenbildung an *Populus trichocarpa*. 184
Penicillium brevicaulis, Rhodanverbindungen als Stickstoffquelle. 77
— *glaucum*, aromatische Verbindungen als Kohlenstoffquelle. 649
— —, Entwicklung, Hemmung durch verschiedene Substanzen. 651
— —, — —, Wirkung äußerer Bedingungen. 639
— —, — —, — von Wasserstoffionen. 675
— —, Rhodanverbindungen als Stickstoffquelle. 77
— —, Umwandlung von Salicylsäure in Gentisinsäure. 658
— —, Wirkung von Brom und Jod. 196
— *rubrum* n. sp., Vorkommen auf *Gastropacha pini*. 201
Pepsin, Spaltprodukte, Behandlung mit Trypsin, Plasteinbildung. 84
Pericystis alvei n. gen. et n. sp., Vorkommen in Bienenstöcken. 95
Peridermium, Übertragung von *Pinus ponderosa* auf *Comptonia asplenifolia*. 112
— — — *Pinus silvestris* auf *Comptonia asplenifolia*. 112
—, Vorkommen von *Tuberculina maxima*. 142
— *acicola*, Schädling von *Pinus pomilio*. 101
— *balsameum*, Infektionsversuche. 117

- Peridermium balsameum*, Übertragung von *Abies balsamea* auf *Aspidium thelypteris*. 117
 — — — — — *Onoclea struthiopteris*. 117
 — *laricis*, Schädling von *Larix europaea*. 143
 — —, Auftreten in Schottland. 143
 — *pini* f. *corticola*, Schädling der Weymouthskiefer. 138
 — *strobi*, Gesetz zur Verhütung der Einschleppung nach Kanada. 199
Perilampus cuprinus, Parasit von *Blepharipa scutellata*. 212
 — — — natürlichen Feinden von *Euproctis chrysorrhoea*. 212
 — — — — — *Porthetria dispar*. 212
 — *hyalinus*, Parasit von natürlichen Feinden von *Hyphantria textor*. 212
 — — — *Varichaeta*. 212
Periomnatus bispinus n. sp., Beschreibung. 189
 — *camerunus*, n. sp., Beschreibung. 189
 — *excisus* n. sp., Beschreibung. 189
 — *gracilis* n. sp., Beschreibung. 189
 — *inermis* n. sp., Beschreibung. 189
 — *major* n. sp., Beschreibung. 189
 — *nekurii* n. sp., Beschreibung. 189
 — *nitidicollis* n. sp., Beschreibung. 189
 — *piceus* n. sp., Beschreibung. 189
 — *severini* n. sp., Beschreibung. 189
 — *signatus* n. sp., Beschreibung. 189
 — *similis* n. sp., Beschreibung. 189
 — *substriatus* n. sp., Beschreibung. 189
Periplaneta americana, Larve, Schädigung durch *Micrococcus nigrofaciens*. 70
 — *australasiae*, Einschleppung in Rußland. 186
Peronospora, Bekämpfungsversuche mit Azurin. 209
 — — — *Laykoschwefel*. 209
 — — — *Pulvazuro*. 209
 — *alta*, Schädling von *Plantago major*. 102
 — *effusa*, Schädling von *Chenopodium album*. 103
 — *viticola*, Auftreten und Verbreitung. 207
Peronosporaceen, Biologie und Bekämpfung. 199
Perrisia fraxini, Gallenbildung an Esche. 169
 — *gallicola* (?), Gallenbildung an *Galium cruciata*. 170
 — *oenophila*, Schädling vom Weinstock. 102
 — (?) *tamaricina* n. sp., Gallenbildung an *Tamarix*. 166
 — *ulmariae*, Gallenbildung an *Ulmaria filipendula*. 169
Persea gratissima, Schädigung durch *Glomerella cingulata*. 113
 — — — *Phyllachora gratissima*. 109
Persicaria, Schädigung durch *Sphacelotheca hydropiperis*. 103
Pestalotia truncata septoriana n. var., Vorkommen auf Rubiaceenblättern. 96
Pestalozzia besser *Pestalotia*. 96
 —, Schädling von *Ilex aquifolium*. 103
 — *funerea*, Schädling von *Rhododendron*. 103
 — *guepini*, Schädling von *Camellia*. 103
Petroleum, Bekämpfungsmittel gegen Schwammspinner. 205
Petroleumemulsion, Bekämpfungsmittel gegen *Bryobia pratensis*. 152
 — — — *Eriophyes piri*. 205
 — — — *Heliothrips haemorrhidialis*. 212
 — — — *Hellula undalis*. 207
Petroleumseifenbrühe, Bekämpfungsmittel gegen Pockenkrankheit des Birnbaums. 130
Petroselinum sativum, Schädigung durch *Trioza viridula*. 189
Pezoloma griseum n. gen. et n. sp., Schädling von *Betula occidentalis*. 108
Pfirsich, Vorkommen von *Caryospora putaminum* an den Kernen. 111
Pfirsichbaum s. a. *Prunus persica*.
 —, Kräuselkrankheit, Bekämpfung mit Schwefelkalkbrühe. 198
 —, Schädigung durch *Myzus persicae*. 131
 — — — Ohrwürmer. 181
 — — — *Taphrina deformans*. 130
Pflanzen, Blattverletzungen, Vernarbung. 161
 —, Blütennektarien, Vorkommen von Bakterien und Pilzen. 96
 —, Cutikula, Schutz gegen Blattläuse. 295
 —, Infektion durch Pilze. 96
 —, Invertase, Aktivität während des Winterschlafes. 85
 —, sterile Kultur. 194
 —, organoide Mißbildungen. 158
 —, Phosphorassimilation aus organischen Verbindungen. 194
 —, Rauchschäden, Untersuchung. 178
 —, Reaktion auf Blattlausstiche. 304
 —, Schädigung durch Bakterien. 97
 —, Schwefelernährung. 67
 —, Stoffwechsel im Frühjahr, Bedeutung der Eiweißreservestoffe. 84
 —, Symbiose, chemische Probleme. 174
 —, teratologische Bildungen. 157
 —, Verwandtschaft, serologischer Nachweis, Antigen-Mischmethode. 712
 —, Vorkommen von Nitraten und Nitriten. 195
 —, Wirkung von graphithaltigem Boden. 196
 —, Wurzelausscheidungen. 194
Pflaumenbaum s. a. *Prunus domestica*.
 —, Milchglanz durch *Stereum purpureum*. 131
 —, Schädigung durch Blattwespen. 187
Phaedon, *Zicrona coerulea* natürlicher Feind. 211
 — *betulae*, Bekämpfung mit Bleiarсенat. 215

- Phaedon betulae*, Biologie und Bekämpfung. 215
Phaenobremia n. gen. 162
Phaeogenes plutellae, natürlicher Feind von *Plutella maculipennis*. 213
Phaeonectria, synonym mit *Letendraea*. 588
Phaeoseptoria oryzae n. sp., Schädling von Reis. 124
Phaeosphaerella macularis, Synonymie. 144
Phaeosphaeria oryzae n. sp., Schädling von Reis. 124
Phalangium opilio, natürlicher Feind von Blattläusen. 211
Phallus imperialis. 99
— *impudicus*. 99
Phallus indusiatus. 98
Phallothrix hyalotricha n. gen. et n. sp. 108
Phaseolus nanus, Schädigung durch *Uromyces appendiculatus*. 108
— *vulgaris*, Schädigung durch *Gloeosporium lindemuthianum*. 113
Phegopteris, Übertragung von *Uredinopsis phegopteridis* auf *Abies balsamea*. 117
— *dryopteris*, Infektionsversuche mit *Peridermium balsameum*. 117
Phellodon amicus. 119
— *carnosus* n. sp. 119
— *pullus*. 119
— *tomentosus*. 119
Phenylalanin, Vorkommen in Cheddarkäse. 90
Phialea. 108
Philippinen, Pilzflora, Beiträge. 107
Philophylla centaurea, Schädling von *Apium graveolens*. 103
— *onopordinis*, Schädling von *Apium graveolens*. 103
Phleospora caraganae, Vorkommen von *Mycosphaerella jaczewskii*. 105
— — *var. lathyri* n. var., Vorkommen in Rußland. 106
— *maculans*, Schädling von *Morus*. 103
Phleum pratense, Schädigung durch *Puccinia phlei pratensis*. 121
Phloeothrips oleae, Bekämpfung. 132
Phoenix dactylifera, Schädigung durch *Graphiola phoenicis*. 101
Pholiota aegerita, Schädling von *Populus*. 103
Phoma anethi. 117
— *araucariae*, Schädling von *Araucaria*. 103
— *bacteriophila* n. sp., Schädling von *Pinus strobus*. 109
— *leprosa* n. sp., Schädling von *Crataegus punctata*. 109
— *niphonia* n. sp., Schädling von *Morus alba*. 132
— *pigmentivora*, Farbstoffbildung. 93
— *richardiae* n. sp., Vorkommen auf *Richardia afrikana*. 149
— *roystonea* n. sp., Vorkommen. 109
— *spinaciae* n. sp., Schädling von *Spinat*. 99
Phormium tenax, Schädigung durch *Glomerella cingulata*. 113
Phosphor, Assimilation durch Pflanzen. 194
Phosphuga atrata nicht schädlich für Rüben. 154
Phragmidium americanum, Schädling von Rosen. 107
— *andersoni*, Vorkommen in Rußland. 105
— *carbonarium*, Schädling von *Sanguisorba*. 107
— *barnardi* var. *pauciloculare*, Schädling von *Rubus*. 107
— *fusiforme*, Schädling von Rosen. 107
— *griseum*, Schädling von *Rubus*. 107
— *heterosporum*, Schädling von *Rubus*. 107
— *japonicum*, Schädling von Rosen. 107
— *nambuanum*, Schädling von *Rubus*. 107
— *potentillae*, Schädling von *Potentilla*. 107
— *roseae multiflorae*, Schädling von Rosen. 107
— *rubi*, Schädling von *Rubus*. 107
— — *japonici* n. sp., Schädling von *Rubus*. 107
— — *idaei*, Schädling von *Rubus*. 107
— — *thunbergii*, Schädling von *Rubus*. 107
— *yezoense*, Schädling von Rosen. 107
— *yoshinagai*, Schädling von *Rubus*. 107
Phragmites communis, Schädigung durch *Puccinia phragmitis*. 102
Phtorimaea operculella, *Pediculoides ventricosus* natürlicher Feind. 214
Phyllachora meliae n. sp., Schädling von *Melia azedarach*. 108
Phylacia pusilla n. sp., Vorkommen auf Rinde. 108
Phyllachora gentilis var. *calyptanthus* n. var., Schädling von *Calyptanthus tonduzii*. 109
— *gratissima*, Schädling von *Persea gratissima*. 109
Phyllactinia suffulta, Schädling von *Alnus glutinosa*. 102
— — — *Corylus avellana*. 102
Phyllocoptes fockeni, Gallenbildung. 167
— *gymnaspis*, Gallenbildung an Ahorn. 169
— *populi*, Gallenbildung an Pappel. 169
— *schlechtendali*, Gallenbildung. 167
— *setiger*, Gallenbildung an Erdbeere. 169
— *unguiculatus*, Gallenbildung. 167
— *vitis*, Gallenbildung. 167
Phyllokakteen, Schädigung durch Wollläuse. 214
Phyllopertha horticola, Bekämpfung. 191
Phyllosticta ardisiae n. sp., Schädling von *Ardisia humilis*. 147
— *calycanthi*, Schädling von *Calycanthus*. 103
— *cameliae*, Schädling der Kamelie. 98
— *cheiranthicola* n. sp., Vorkommen in Böhmen. 101
— *circumscissa*, Schädling von *Prunus*. 102

- Phyllosticta cydonicola*, Schädling von *Cydonia vulgaris*. 102
 — *grandimaculans* n. sp., Schädling von *Fragaria*. 99
 — *interficiens* n. sp., Vorkommen im Berninagebiet. 105
 — *juglandis*, Schädling von *Juglans regia*. 102
 — *maculiformis*, Schädling von *Castanea vesca*. 102
 — *mortoni* n. sp., Schädling von *Mangifera indica*. 96
 — *osteospora*, Schädling von *Morus*. 102
 — *osmanthicola* n. sp., Schädling von *Osmanthus fragrans*. 147
 — *persicae*, Schädling von *Prunus persica*. 102
 — *pirina*, Vorkommen auf Apfelblättern. 64
 — — — Birnbaumblättern. 64
 — *populina*, Schädling von *Populus nigra*. 102
 — *prunicola*, Schädling von *Prunus pissardi*. 102
 — *salicicola*, Schädling von *Salix alba*. 102
 — *vitis*, Schädling des Weinstocks. 101
 — *zizyphi*, Schädling von *Zizyphus vulgaris*. 102
Physalospora bersamae, Vorkommen. 109
Physalosporina tranzschelii n. gen. et n. sp., Schädling von *Caragana frutescens*. 105
 Physiologie, Bedeutung für die Schädlingsforschung. 96
Physospora, Zugehörigkeit von *Nematomum*. 81
Phyteuma scheuchzeri, Gallenbildung durch *Cocciden*. 170
Phytolacca decandra, Schädigung durch *Septoria phytolaccae*. 103
Phytomyza orobanchae, *Sphegigaster orobanchiae* natürlicher Feind. 213
 — *xylostei*, Schädling von *Lonicera*. 181
 — — — *Symphoricarpos*. 181
 — — — Vergesellschaftung mit einer *Cecidomyide*. 181
Phytonomus variabilis, *Canidia curculionidis* natürlicher Feind. 153
 — — — *Eulophus* natürlicher Feind. 153
 — — — *Eutelus* natürlicher Feind. 153
 — — — *Pimpla maculator* natürlicher Feind. 153
 — — — Schädling von Luzerne. 153
Phytophthora cactorum, Schädling von *Panax quinquefolium*. 125
Phytophthora infestans, Rhodanverbindungen als Stickstoffquelle. 77
 — — — Schädling von Kartoffeln in Neu-Süd-Wales. 156
 — — — — *Solanum lycopersicum*. 102
 — — — — *Solanum tuberosum*. 103
Phytoptus piri, Schädling von *Pirus communis*. 101
Picea excelsa s. a. Fichte. 141
 — — — Polycladie. 141
Picridium dichotomum, Schädigung durch *Puccinia picridii*. 107
Pieris brassicae, Schädling von Kapernstrauch. 146
 — *rapae*, Schädling vom Kapernstrauch. 146
 Pilze, Entwicklung, Wirkung von Trockenheit. 176
 — — — Farbstoffbildung. 40. 93. 111. 625. 632
 — — — Fruktifikation, Wirkung der Transpiration. 78
 — — — Infektion von Pflanzen. 96
 — — — Kohlenstoffnahrung aus Verunreinigungen der Luft. 36
 — — — Nachweis peptolytischer Fermente. 84
 — — — Rhodanverbindungen als Stickstoffquelle. 77
 — — — Schimmel-, Erreger von Flecken an Butter. 88
 — — — Sexualität. 77
 — — — Symbiose mit *Aleyrodes*. 183
 — — — — *Anobium panicum*. 183
 — — — Systematik, Überblick. 110
 — — — Vorkommen in Blütennektarien. 96
 — — — — auf Holz in Bergwerken. 94
 Pilzflora von Costarica, Beiträge. 109
 — Japans, Beiträge. 107
 — des belgischen Kongos, Beiträge. 109
 — der Umgebung von Moskau. 106
 — der Ostseeprovinzen, Beiträge. 106
 — der Philippinen, Beiträge. 107
 — Südafrikas, Beiträge. 109
 — Syriens, Beiträge. 107
 — der Vereinigten Staaten, Beiträge. 109
Pimenta acris, Schädigung durch *Glomerella cingulata*. 113
Pimpla graminella, *Neochrysocharis albipes* n. gen. et n. sp. natürlicher Feind. 213
 — *maculator* natürlicher Feind von *Phytonomus variabilis*. 153
 — *pomorum*, natürlicher Feind von *Anthonomus pomorum*. 215
PinioprozeSSIONsspinner s. a. *Cnethocampa pithyocampa*. 137
 — — — Auftreten. 137
Pinophilus suffusus, Vorkommen von *Corethromyces rhinoceralis*. 115
Pinus, Pollenkörner, Vorkommen von *Rhizopidium monosporum*. 104
 — — — Schädigung durch *Argyresthia*. 191
 — — — — *Leucaspis pini*. 103
 — *pomilio*, Schädigung durch *Peridermium acicola*. 101
 — — — *ponderosa*, *Peridermium*, Übertragung auf *Comptonia asplenifolia*. 112
 — — — *silvestris*, *Peridermium*, Übertragung auf *Comptonia asplenifolia*. 112
 — — — — — Schädigung durch *Pityogenes austriacus*. 142

- Pinus strobus*, Schädigung durch *Phoma bacteriophila*. 109
 — — — *Septoria mirabilissima*. 109
Pinusholz, Vorkommen von *Fomes annosus*. 94
Piper macrophyllum, Schädigung durch *Glomerella cingulata*. 113
 — *nigrum*, Gallenbildung durch *Gynaikothrips crassipes*. 162
Piricularia oryzae, Schädling von Reis. 102
Pirus betulifolia, Gallenbildung durch *Bacterium tumefaciens*. 167
 — *communis* s. a. Birnbaum. — —, Gallenbildung durch *Bacterium tumefaciens*. 167
 — —, Schädigung durch *Aphis piri*. 102
 — —, — *Coniothyrium tirolense*. 101
 — —, — *Gymnosporangium juniperinum*. 101
 — —, — *Monilia fructigena*. 102
 — —, — *Phytoptus piri*. 101
 — —, — *Sphaeropsis malorum*. 102
 — —, — *Trichothecium roseum*. 101
 — *malus* s. a. Apfelbaum. — —, Schädigung durch *Fusicladium dendriticum*. 102
 — —, — *Hyponomeuta malinella*. 102
 — —, — *Schizoneura lanigera*. 102
 — *pashia*, Gallenbildung durch *Bacterium tumefaciens*. 167
Pissodes hercyniae, Vorkommen an Fichten. 135
 — *notatus*, Bekämpfung. 138
 — *piceae*, Vorkommen an Tannen. 135
Pisum s. a. Erbse. —, Schädigung durch *Ascochyta pisi*. 103
Pitcairnia corallina, Schädigung durch *Glomerella cingulata*. 113
Pityogenes austriacus, Verbreitung. 142
 — —, Schädling von *Pinus silvestris*. 142
 — *elongatus*, Vorkommen auf Seeland. 142
Plagiodera, *Zicrona coerulea* natürlicher Feind. 211
Plantago major, Schädigung durch *Peronospora alta*. 102
Plasmodiophora brassicae s. a. Kohlhernie. — —, Vergesellschaftung mit *Olpidium brassicae*. 145
Plasmopara ribicola, Beschreibung. 105
 — *viticola*, Schädling von *Vitis silvestris*. 133
 Plasteinbildung bei Behandlung peptischer Spaltprodukte mit Trypsin. 84
 Platinnadel, neue. 75
Platyparaea poeciloptera, Schädling von *Asparagus officinalis*. 103
 Platypodiden Afrikas. 139
Platypus ater n. sp., Vorkommen in Madagaskar. 139
 — *bilobatus* n. sp., Vorkommen in Peru. 139
 — *punctatus* n. sp., Vorkommen in Madagaskar. 139
Platypus tomentosus, Vorkommen in Kamerun. 139
 — *vastus* n. sp., Vorkommen in Kamerun. 139
Plectus granulosus, Vorkommen in erkrankten Hyazinthenzwiebeln. 148
Plenariola morstatti n. sp., Vorkommen in Gespinnsten von *Archipsocus textor*. 144
Pleonectria pinicola, besser *Ophionectria scolecospora*. 598
Pleosphaerulina briosiana, Schädling von *Medicago sativa*. 103
Pleospora catumensis n. sp., Schädling vom Orangenbaum. 131
 — *thujae* n. sp., Schädling von *Thuja occidentalis*. 104
Pleotrachelus, Beziehung zu *Olpidium borzii*. 145
Plesiobremia n. gen. 162
Plesiodiplosis n. gen., Untergattung von *Clinodiplosis*. 166
Plowrightia morbosa Schädling von *Prunus*. 108
Plutella maculipennis, *Apanteles plutellae* natürlicher Feind. 213
 — —, *Phaeogenes plutellae*, natürlicher Feind. 213
Pluteus minutus n. sp., Vorkommen auf Rinde. 107
Poa pratensis, Schädigung durch *Puccinia poarum*. 121
 Pockenkrankheit des Birnbaums, Bekämpfung mit Petroleumseifenbrühe. 130
 — — — — Schwefelkalkbrühe. 130
Podoscypha aurantiaca, Vorkommen. 109
Podosphaera myrtillina, Schädling von *Vaccinium myrtillus*. 135
 — —, Verbreitung in Schottland. 135
 — *tridactyla*, Schädling von *Prunus armeniaca*. 102
Pogonomymex barbatus molefaciens, Bekämpfung mit Cyankali. 188
 — — — — Schwefelkohlenstoff. 188
Polychrosis, Vorkommen von *Spicaria farinosa verticillioidea*. 210
Polycladie von *Picea excelsa*. 141
Polygonum, Schädigung durch *Blattwespen*. 187
 — *alpinum*, Schädigung durch *Puccinia nitidula*. 105
 — —, — *Puccinia polygoni alpini*. 118
 — —, — *Puccinia sibirica*. 105
 — *aviculare*, Schädigung durch *Ovularia avicularis*. 109
 — *hydropiper*, Gallenbildung durch *Ceuthorhynchus contractus*. 168
 — *laxmani*, Schädigung durch *Puccinia nitidula*. 105
 — *persicaria*, Gallenbildung durch *Nematoden*. 170
Polygraphus polygraphus, Vorkommen an Fichten. 135

- Polypodium*, Schädigung durch Blattwespen. 187
 — biforme, Schutzvorrichtung gegen Vertrocknung. 177
 — brunoi, Schutzvorrichtung gegen Vertrocknung. 177
 — iboense, Vorkommen von *Belonium brauseanum*. 110
Polyporus annosus, Vorkommen in Finnland. 142
 — *berkeleyi*, Schädling von *Larix occidentalis*. 143
 — *caudicinum*, Vorkommen an Obstbäumen. 104
 — *gilvus*, Vorkommen. 94
 — *hispidus*, Schädling von Obstbäumen. 104
 — *pini*, schädliches Auftreten in Schweden. 142
Polysecytium cylindroides, Vorkommen. 79
 — *sericeum*, Vorkommen. 79
Polystictus callisteus, Vorkommen. 109
 — *sacer*, Vorkommen. 109
 — *versicolor*, Vorkommen. 94
Polystigma rubrum, Perithecieneentwicklung. 116
 Polysulfidlösung, Bekämpfungsmittel gegen Kräuselkrankheit des Weinstocks. 209
Polytrias praemorsa, Schädigung durch *Ustilago polytriadis*. 114
Polytrichum formosum, Gallenbildung. 168
Pontania proxima, Gallenbildung an *Salix hastata*. 170
 — — — Weide. 169
Populus s. a. Pappel.
 —, Schädigung durch *Cerura liturata*. 181
 —, — — *Pholiota aegerita*. 103
 —, — — *Teichospora trimorpha*. 109
 — *canadensis*, Schädigung durch *Cytospora nivea*. 103
 —, — — *Dothichiza populea*. 103
 — *ciliata*, Gallenbildung durch *Pemphigus imaicus*. 170
 —, — — *Pemphigus mordwilkoii*. 170
 —, — — *Pemphigus nainitalensis*. 170
 — *deltoides*, Schädigung durch *Melampsora medusae*. 108
 — *fremonti*, Schädigung durch *Thomasia populifoliae*. 184
 — *grandidentata*, Übertragung von *Melampsora medusa* auf *Tsuga canadensis*. 117
 — *monilifera*, Gallenbildung durch *Pemphigus populea*. 184
 — *nigra*, Schädigung durch *Phyllosticta populina*. 102
 —, — — *Septoria populi*. 102
 — *tremula s. a. Espe*.
 —, Schädigung durch *Sphaerella macularis*. 144
 — *tremuloides*, Gallenbildung durch *Pemphigus populea*. 184
Populus tremuloides, Schädigung durch *Sirodotis populi*. 108
 — *trichocarpa*, Gallenbildung durch *Pemphigus populimonilis*. 184
 — —, Schädigung durch *Eichochaitophorus populifolii*. 184
 — —, — — *Thomasia populeicola*. 184
 — —, — — *Thomasia salicicola*. 184
Porogramme camptogramma n. sp., Vorkommen auf Bambusstämmen. 107
 — *duporti n. sp.*, Vorkommen auf abgestorbenen Zweigen. 107
Porosagrotis vetusta, Bekämpfung mit Bleiarsenat. 147
 — —, Schädling von Melone. 147
Porthetria dispar, Gesetz zur Verhütung der Einschleppung nach Kanada. 199
 — —, natürliche Feinde, *Perilampus cuprinus* Parasit. 212
Potentilla, Schädigung durch *Phragmidium potentillae*. 107
 — *anserina*, Gallenbildung. 167
Prays oleellus, Schädling von *Olea europaea*. 102
 Preißelbeere, Wirkung der Trockenheit. 177
Primula veris, abnorme Blütenbildung. 159
Prinothrips niezabitowski n. gen. et n. sp., Gallenbildung an *Juniperus communis*. 167
Prociphilus tessellata, Schädling vom Ahorn. 144
 — —, — von Erle. 144
Prospaltella berlesii, Bekämpfung von *Diaspis pentagona* in Italien. 211
Protea grandiflora, Schädigung durch *Tetratosphaeria*. 110
Prototheca zopfii, Wirkung von Gelatine verschiedener Konzentration. 568
 Protozoen des Bodens, Untersuchung. 8
 —, Wirkung auf die Ammoniakbildung durch Bakterien. 22
 — — — den Bakteriengehalt von Lösungen. 19
 Protozoengehalt des Bodens, Wirkung der Feuchtigkeit. 15
 — — —, — — Temperatur. 13
 — — — in Reisgegenden. 393
Prunus, Schädigung durch *Eriophyes padi*. 102
 —, — — *Hyponomeuta padella*. 103
 —, — — *Phyllosticta circumscissa*. 102
 —, — — *Plowrightia morbosa*. 108
 —, — — *Puccinia pruni-spinosae*. 102
 —, — — *Rhodoseptoria ussuriensis*. 107
 —, Vorkommen von *Letendrea eurotioides*. 587
 — *alleghehiensis*, Gallenbildung durch *Bacterium tumefaciens*. 167
 — *americanus*, Schädigung durch *Exoascus pruni*. 108
 — *amygdalus*, Gallenbildung durch *Bacterium tumefaciens*. 167
 — *armeniaca*, Gallenbildung durch *Bacterium tumefaciens*. 167

- Prunus armeniaca*, Schädigung durch *Podospaera tridactyla*. 102
 — *avium*, Gallenbildung durch *Bacterium tumefaciens*. 167
 — —, Schädigung durch *Trametes cinnabarina*. 103
 — *cerasifera*, Gallenbildung durch *Bacterium tumefaciens*. 167
 — *davidiana*, Gallenbildung durch *Bacterium tumefaciens*. 167
 — *domestica* s. a. Pflaumenbaum.
 — —, Gallenbildung durch *Bacterium tumefaciens*. 167
 — *fremontii*, Schädigung durch *Septoria magnospora*. 109
 — *laurocerasus*, Schädigung durch *Gloeosporium phacidiellum*. 104
 — *mahaleb*, Gallenbildung durch *Bacterium tumefaciens*. 167
 — *mume*, Schädigung durch *Caecoma makinoi*. 160
 — *orthosepala*, Gallenbildung durch *Bacterium tumefaciens*. 167
 — *padus*, Reaktion auf Blattlausstiche. 317
 — —, Schädigung durch *Eriophyes padi*. 102
 — *persica* s. a. Pfirsichbaum.
 — —, Gallenbildung durch *Bacterium tumefaciens*. 167
 — —, Schädigung durch *Aphis persicae*. 102
 — — — *Clasterosporium amygdalearum*. 101
 — — — *Exoascus deformans*. 102
 — — — *Oidium leucoconium*. 101
 — — — *Phyllosticta persicae*. 102
 — *pissardi*, Schädigung durch *Phyllosticta prunicola*. 102
 — *platycarpa*, Gallenbildung durch *Bacterium tumefaciens*. 167
 — *simonii*, Gallenbildung durch *Bacterium tumefaciens*. 167
 — *triflora*, Gallenbildung durch *Bacterium tumefaciens*. 167
Psectrosema provincialis n. sp., Gallenbildung an *Tamarix*. 166
 — *tamaricis*, Gallenbildung an *Tamarix*. 166
Pseudococcus citri s. a. *Dactylopius citri*.
 — —, *Hyperaspis lateralis* natürlicher Feind. 206
 — —, *Rhizobius lopanthae* natürlicher Feind. 206
 — —, *Scymnus sordidus* natürlicher Feind. 206
Pseudomonas radiculicola, Vergesellschaftung mit *Anabaena cycadeae*. 173
 — *trifolii*, Vorkommen in Milch. 87
Pseudopeziza, Zugehörigkeit von *Gloeosporium*. 119
 — *medicaginis*, Schädling von *Medicago sativa*. 103
 — *trifolii*, Schädling von *Trifolium*. 103
Pseudovalsa, Zugehörigkeit von *Coryneum*. 119
Psidium, Schädigung durch *Aleyrodes floridensis*. 187
 — — — *Aleyrodes mori*. 187
 — — — *Aleyrodes perseae*. 187
 — *guajavaradii*, Schädigung durch *Aleyrodes cardini*. 187
 — *guajava*, Schädigung durch *Glomerella cingulata*. 113
Psociden, Vorkommen von Spinndrüsen. 144
Psylla mali, Bekämpfung mit *Karbolineum*. 129
 — —, Schädling vom Apfelbaum. 129
Psylliodes affinis, Schädling der Kartoffel. 215
 — *attenuata*, Biologie und Bekämpfung. 157
 — —, Schädling von Hanf. 156
 — — — Hopfen. 156
 — — — *Urtica dioica*. 156
 — —, Unterschied von *P. hyoscyami*. 156
 — *punctatula*, Bekämpfung. 157
 — —, Schädling von Hanf. 156
 — — — Hopfen. 156
 — — — *Urtica dioica*. 156
Pteris, Schädigung durch Blattwespen. 187
 — *kunzeana*, Schutzvorrichtung gegen Vertrocknung. 177
Pteromalus pospelovi, natürlicher Feind von *Agrilus hastulifer*. 213
Pterostichus, Vorkommen von *Laboulbenia fuscata*. 115
Puccinia amphigena, Schädling von *Calamovilfa longifolia*. 108
 — *arrhenateri*, Schädling von *Avena elatior*. 121
 — *asparagi*, Schädling von *Asparagus officinalis*. 102
 — *buxi*, Teleutosporen, Keimungsbedingungen. 705
 — *coronifera* f. sp. *festucae*, Schädling von *Festuca pratensis*. 121
 — *crandallii*, Schädling von *Festuca ovina*. 108
 — *cymbopogonis* n. sp., Schädling von *Cymbopogon citratus*. 114
 — *callaquiensis*, Schädling von *Geranium sessiflorum*. 152
 — *deminuta*, Schädling von *Galium palustre*. 118
 — *elephantopodis-spicati* n. sp., Schädling von *Elephantopus spicatus*. 109
 — *festucina* n. sp., Schädling von *Festuca ovina*. 106
 — *fusca*, Mycel, Untersuchung. 150
 — —, Schädling von *Anemone nemorosa*. 150
 — *geranii*, Schädling von *Geranium nepalense*. 152
 — — — *Geranium richardsoni*. 151
 — — — *Geranium rotundifolium*. 151

- Puccinia geranii*, Schädling von *Geranium silvaticum*. 151
 — — — *Geranium venosum*. 152
 — — — Unterschied von *P. saniensis*. 152
 — — — Verbreitung in geographisch-biologischen Rassen. 151
 — — — *silvatici*, Identität mit *P. geranii*. 151
 — *graminis* s. a. Schwarzrost. 103
 — — — Schädling von Futtergräsern. 103
 — — — Schädling von Gerste. 101
 — — — — vom Weizen. 101
 — *gypsophilae-repentis* n. sp., Schädling von *Gypsophila repens*. 104
 — *koeleriae*, Schädling von *Koeleria cristata*. 108
 — *malvacearum*, Schädling von *Althaea*. 102
 — — — — *Malva*. 103
 — — — Teleutosporen, Bedeutung der Luftfeuchtigkeit für die Keimung. 698
 — *melanopsis* n. sp., Schädling von *Gynandris sisyrrinchium*. 118
 — *nitidula* n. sp., Schädling von *Polygonum alpinum*. 105
 — — — — — *Polygonum laxmani*. 105
 — *permixta* n. sp., Aecidienbildung auf *Allium*. 106
 — — — — — Schädling von *Diplachne serotina*. 106
 — *perplexans*, Schädling von *Alopecurus pratensis*. 121
 — *phlei pratensis*, Schädling von *Phleum pratense*. 121
 — *phragmitis*, Schädling von *Phragmites communis*. 102
 — *picridii* n. sp., Schädling von *Picridium dichotomum*. 107
 — *picridis strigosae*, Beziehung zu *Puccinia picridis*. 107
 — *poarum*, Schädling von *Poa pratensis*. 121
 — *polygoni alpini*, Schädling von *Polygonum alpinum*. 118
 — *proximella* n. sp., Schädling von *Chrysanthemum millefoliatum*. 106
 — *pruni-spinosae*, Schädling von *Prunus*. 102
 — *pulvinata* n. sp., Schädling von *Osyridocarpus natalensis*. 114
 — *pustulata*, Schädling von *Andropogon furcatus*. 108
 — *rubelii* n. sp., Vorkommen im Berninagebiet. 105
 — *rumicis scutati*, Schädling von *Rumex acetosella*. 102
 — *saniensis*, Unterschied von *P. geranii*. 152
 — *schirajewskii* n. sp., Schädling von *Serratula*. 105
 — *sibirica* n. sp., Schädling von *Polygonum alpinum*. 105
 — *substerilis*, Schädling von *Stipa viridula*. 108
Puccinia thlaspeos, Teleutosporen, Keimungsbedingungen. 704
 — *trebouxii* n. sp., Schädling von *Melica ciliata*. 106
Pucciniastrum agrimoniae, Schädling von *Agrimonia hirsuta*. 108
 — *myrtilli*, Übertragung von *Vaccinium canadense* auf *Tsuga canadensis*. 117
 Pudelweizen, Ertrag. 121
 Pulque, Herstellung. 85
 Pulvazuro, Bekämpfungsversuche gegen *Oidium*. 209
 — — — *Peronospora*. 209
Pulvinaria camelicola, Symbiose mit *Saccharomyces apiculatus*. 174
 — *vitis*, Symbiose mit *Saccharomyces apiculatus*. 174
Putorius sibirica, Schädigung durch *Amphisilla sibirica*. 170
 — *vulgaris*, Schädigung durch *Amphisilla rossica*. 170
 Putrescin, Vorkommen in Cheddarkäse. 90
Pyrenochaeta fraxinina n. sp., Schädling von *Fraxinus*. 96
 — *oryzae* n. sp., Schädling von Reis. 124
Pyrenophora piliata n. sp., Vorkommen im Berninagebiet. 105
 Pythium, Bekämpfung mit schwefliger Säure. 200
 — *debaryanum*, Schädling von *Panax quinquefolium*. 125
 Quecke, Bekämpfungsmittel. 180
 — — — Bekämpfung in Kiefernkulturen. 200
 — — — Biologie. 179
 — — — Gallenbildung durch *Isosoma graminicola*. 179
 — — — Schädigung durch *Eriophyes cornutus*. 179
 — — — — *Hipparchia egeria*. 179
 — — — — *Hadena basilinea*. 179
 — — — — *Heterodera radiculicola*. 179
 — — — — *Heterodera schachtii*. 179
 — — — — *Pediculoides gramineus*. 179
 — — — — *Tarsonemus*. 179
 — — — — *Tetranychus telarius*. 179
 Queckeneule s. *Hadena basilinea*.
 Queckenrandauge s. *Hipparchia egeria*.
Quedius sorecocephalus, Vorkommen von *Mimeomyces decipiens*. 115
Quercus s. a. Eiche.
 — — — Schädigung durch *Andriscus fecundatrix*. 102
 — — — — *Oidium quercinum*. 103
 — *cerris*, Schädigung durch den Salzgehalt der Luft. 137
 — *ilex*, Schädigung durch den Salzgehalt der Luft. 137
 — *sessiliflora*, Schädigung durch den Salzgehalt der Luft. 137
Racomitrium microcarpum, Gallenbildung. 168

- Radiobacter, Wirkung auf Auftreten sporenfreier Azotobacter-Formen. 7
 Ramularia lactea, Schädling von Viola odorata. 102
 Ranunculaceen, Schädigung durch Blattwespen. 187
 Ranunculus californicus, Schädigung durch Pemphigus californicus. 184
 — sceleratus, Gallenbildung. 167
 Rapistrum linnaeanum, Gallenbildung durch Dipteren. 170
 Rauchschäden an Pflanzen. 178
 Reblaus, Auftreten und Verbreitung. 208
 —, Bekämpfung, Organisation. 574
 —, Denkschrift. 574
 Reis, Schädigung durch Dactylaria grisea. 124
 —, — — Epicoccum neglectum. 101
 —, — — Helminthosporium macrocarpum. 102
 —, — — Hendersonia oryzae. 124
 —, — — Metasphaeria albescens. 124
 —, — — Mycosphaerella shiraiana. 124
 —, — — Ophiobolus oryzae. 124
 —, — — Phaeoseptoria oryzae. 124
 —, — — Phaeosphaeria oryzae. 124
 —, — — Piricularia oryzae. 102
 —, — — Pyrenochaeta oryzae. 124
 —, — — Ustilaginoidea virens. 124
 Retinia buoliana, Schädling von Kiefern. 137
 Rettich, Schädigung durch Myzus persicae. 131
 Rhabditis teres, Vorkommen in erkrankten Hyazinthenzwiebeln. 148
 Rhabdophaga heterobia, Gallenbildung an Salix viminalis. 167
 —, — — Salix viminalis × amygdalina. 167
 Rhacomycetes argentinus n. sp., Vorkommen auf Casponia. 116
 —, Beschreibung. 116
 Rhacophyllus. 108
 Rhagoletis cingulata, Bekämpfung mit Bleiarsenat. 129
 —, Schädling vom Kirschbaum. 129
 — fausta, Bekämpfung mit Bleiarsenat. 129
 —, Schädling vom Kirschbaum. 129
 — pomonella, Bekämpfung mit Kaliumarsenat. 130
 —, Schädling vom Apfelbaum. 130
 —, — — Birnbaum. 130
 —, — — der Heidelbeere. 130
 —, — — von Obstbäumen. 130
 Rhamnus cathartica, Schädigung durch Trioza rhamni. 189
 — saxatilis, Gallenbildung durch Trichopsilla walkeri. 170
 Rhizobius lopanthae, natürlicher Feind von Schildläusen. 206
 Rhizoetonia, Bekämpfung mit schwefliger Säure. 200
 —, Schädling von Panax quinquefolium. 125
 Rhizoetonia strobili, Schädling der Weymouthskiefer. 138
 — violacea, Bekämpfung durch Bodenbehandlung mit Schwefelwasserstoff. 153
 — —, Hypochnus violacea neuer Name. 153
 — —, Schädling von Beta. 154
 — —, — — Daucus. 154
 — —, — — der Luzerne. 153
 — —, — — von Medicago. 103
 — —, Sporenbildung an Galeopsis tetrahit. 154
 — —, — — Urtica dioica. 154
 Rhizoglyphus crassipes, Vorkommen in Ungarn. 154
 Rhizophidium monosporum n. sp., Vorkommen auf Pollenkörnern von Pinus. 104
 Rhodanverbindungen, Stickstoffquelle für Pilze. 77
 Rhodites rosae, Gallenbildung an Rose. 169
 Rhododendron, Schädigung durch Pestalozzia funerea. 103
 — ferrugineum, Exobasidiumgalle, chemische Untersuchung. 150
 — —, Gallenbildung durch Exobasidium vaccinii. 150
 Rhodophyllus submurinus n. sp., Vorkommen auf dem Boden. 107
 Rhodoseptoria ussuriensis n. gen. et n. sp., Schädling von Prunus. 107
 Rhopalocystis n. gen., Zugehörigkeit von Sterigmatocystis antacustica. 104
 — — —, — — Sterigmatocystis carbonaria. 104
 — — —, — — Sterigmatocystis fusca. 104
 — — —, — — Sterigmatocystis niger. 104
 — — —, — — Sterigmatocystis phaeocephala. 104
 Rhopalomyia tanaceticola, Gallenbildung an Tanacetum vulgare. 169
 — tubifex, Gallenbildung an Artemisia campestris. 169
 Rhopalosiphum nymphaeae, Vorkommen in Californien. 184
 Rhoptromeris windhalmi, natürlicher Feind von Oscinella frit. 213
 Rhus typhina, Schädigung durch Diaporthe inornata. 109
 Rhynchoten Deutschlands, Beiträge. 189
 Rhynchothrips tenuirostris n. gen. et n. sp., Vorkommen an Macaranga tanarius. 163
 Ribes oxycanthoides, Schädigung durch Glomerella cingulata. 113
 — rubrum, Verlauf des Stichkanals von Aphis grossulariae. 299
 — —, Vorkommen von Letendraea eurotioides. 587
 Richardia afrikana, Vorkommen von Phoma richardiae. 149
 Richonia variopora, Vorkommen an Asparagus. 111

- Saccharomyces cerevisiae*, Wirkung von Brom und Jod. 195
 — — — Gelatine verschiedener Konzentration. 567
 — *ellipsoideus*, Nachweis von Fettstoffen. 689
 — —, Wirkung organischer Säure. 535
 — *pastorianus*, Wirkung organischer Säure 535
 Säure, organische, Wirkung auf Hefe. 530
 —, schweflige, Bekämpfungsmittel gegen *Pythium*. 200
 —, —, — *Rhizoctonia*. 200
Saissetia hemisphaericum s. *Lecanium hemisphaericum*.
Salicornia herbacea, Schädigung durch *Entophlyctis salicorniae*. 146
 Salicylsäure, Umwandlung in Gentisinsäure durch *Penicillium glaucum*. 658
 —, Wirkung auf die Entwicklung von *Penicillium glaucum*. 652
Salix s. a. Weide.
 —, Schädigung durch *Fomes ignarius*. 103
 —, — — *Fullawaya saliciradicis*. 184
 —, — — *Thomasia viminalis*. 184
 —, — — *Trioza albiventris*. 189
 —, Übertragung von *Melampsora arctica* auf *Abies balsamea*. 117
 —, Vorkommen von *Letendreaa eurotioides*. 587
 — *acuminata*, Schädigung durch *Cecidomyia albipennis*. 164
 — *alba*, Gallenbildung durch *Cecidomyiden*. 164
 — —, Schädigung durch *Phyllosticta salicicola*. 102
 — *amygdalina*, Gallenbildung durch *Cecidomyiden*. 164
 — *aurita*, Gallenbildung durch *Apion minimum*. 169
 — *babylonica*, Schädigung durch *Angelica tyrrhea*. 143
 — *caprea*, abnorme Blütenbildung. 159
 — —, Schädigung durch *Asteroma argentea*. 99
 — *cinerea*, Schädigung durch *Cecidomyia albipennis*. 164
 — *fragilis*, Gallenbildung durch *Cecidomyiden*. 164
 — *hastata*, Gallenbildung durch *Pontania proxima*. 170
 — *herbacea*, Gallenbildung durch *Cecidomyiden*. 164
 — *incana*, Gallenbildung durch *Eriophyes salicis*. 170
 — *laevigata*, Schädigung durch *Micrella monelli*. 184
 — —, — — *Symdobius salicicortis*. 184
 — —, — — *Thomasia salicicola*. 184
 — *lasiolepis*, Schädigung durch *Micrella monelli*. 184
 — *macrostachya*, Schädigung durch *Symdobius macrostachyae*. 184
 — —, — — *Thomasia crucis*. 184
Salix pentandra, Gallenbildung durch *Cecidomyiden*. 164
 — *pulchra*, Schädigung durch *Cecidomyia rosaria*. 164
 — *purpurea*, Schädigung durch *Cecidomyia rosaria*. 164
 — *rosmarinifolia*, Gallenbildung durch *Cecidomyiden*. 164
 — *rubra*, Gallenbildung durch *Cecidomyiden*. 164
 — *viminalis*, Gallenbildung durch *Cecidomyiden*. 164
 — —, — — *Rhabdophaga heterobia*. 167
 — — × *amygdalina*, Gallenbildung durch *Rhabdophaga heterobia*. 167
 — *vitellina*, Gallenbildung durch *Cecidomyiden*. 164
Salvia, Schädigung durch *Oidium hormyni*. 103
 — *pratensis*, Schädigung durch *Ovularia ovata*. 103
Sambucus racemosa, Schädigung durch *Ascochyta sambucella*. 99
 Samen, Fäulnis, Bedeutung der Pektinvergärer. 98
 —, Keimung, Wirkung von Licht. 710
Sanguisorba, Schädigung durch *Phragmidium carbonarium*. 107
Sarcina aurantiaca, Wirkung von Gelatine verschiedener Konzentration. 560
 Sardinien, Heuschreckenplagen. 188
Sarothamnus scoparius, Ambrosiagalle, Vorkommen von *Macrophoma*. 46
 Sauerstoff, Wirkung auf die Autolyse von Eiweiß. 85
 Sauerwurm, Schädling des Weinstocks, Wirkung der Trockenheit. 177
Scaphidiomyces baeocerae n. gen. et n. sp., Vorkommen auf *Baeocera*. 116
Scelophoromyces osorianus n. gen. et n. sp., Vorkommen auf *Osorius sexpunctatus*. 116
Scenodesmus, Wirkung von Calciumhypochlorid auf die Entwicklung. 73
 Schattenmorelle, Infektion durch *Monilia fructigena*. 127
 —, Schädigung durch *Monilia cinerea*. 127
 Schildläuse, Bekämpfung mit Schwefelkalkbrühe. 198
 —, *Chrysoplatycerus splendens* natürlicher Feind. 206
 —, *Hyperaspis lateralis* natürlicher Feind. 206
 —, *Rhizobius lopanthæ* natürlicher Feind. 206
 —, *Scymnus sordidus* natürlicher Feind. 206
 Schildlaus, austernförmige, Bekämpfung mit Leinölseifenbrühe. 214
Schinus molle, Gallenbildung durch *Bacterium tumefaciens*. 167
Schinzia, Vorkommen in Böhmen. 100
Schizonella, Vorkommen in Böhmen. 99

- Schizoneura lanigera*, Bekämpfung mit Schwefelkalkbrühe. 214
 — —, Gesetz zur Verhütung der Einschleppung in Kanada. 199
 — —, Schädling von Obstbäumen. 102
 — —, — — *Pirus malus*. 102
 — ulmi, Gallenbildung an Ulme. 169
Schizophyllum commune, Vorkommen. 94
 Schleimfluß von *Fagus silvatica*, Vorkommen von *Mononchus muscorum*. 186
 Schlesien, Gallen, Beiträge. 169
 Schorf der Kartoffel, Bedeutung der Kalkdüngung. 97
 Schottland, Auftreten von *Peridermium laricis*. 143
 —, Verbreitung von *Podosphaera myrtilina*. 135
Schoutenia ovata, Gallenbildung, Vorkommen von *Dolerothrips laticauda*. 162
 — —, — —, — — *Neoheegeria mendax*. 162
Schroeteria, Vorkommen in Böhmen. 100
 — bornmülleri n. sp., Schädling von *Veronica biloba*. 107
 Schütte der Fichte durch Vertrocknung. 140
 — — Kiefer, Bekämpfung. 200
 — — — durch Vertrocknung. 140
 — — —, Empfänglichkeit der Nachkommen verschiedener Samenbäume. 136
 Schwammspinner, Bekämpfung. 191
 —, — mit Petroleum. 205
 —, — — natürlichen Feinden in Amerika. 211
 Schwarzkiefer, Schädigung durch *Cronartium ribicolum*. 135
 Schwarzzrost s. a. *Puccinia graminis*.
 —, Widerstandsfähigkeit von Fyrishafer. 121
 Schweden, schädliches Auftreten von *Polyporus pini*. 142
 Schwefelblüte, Bekämpfungsmittel gegen *Monarthropalpus buxi*. 211
 Schwefelkalium, Bekämpfungsmittel gegen amerikanischen Stachelbeermeltau. 207
 Schwefelkalkbrühe, Bekämpfungsmittel gegen *Eriophyes piri*. 205
 —, — — Pockenkrankheit des Birnbaums. 130
 —, — — *Schizoneura lanigera*. 214
 —, — — verschiedene pflanzliche und tierische Schädlinge. 198
 Schwefelkalk-Bleiarsenbrühe, Bekämpfungsmittel gegen Insekten. 198
 Schwefelkies, Entstehung der Lagerstätten. 92
 Schwefelkohlenstoff, Bekämpfungsmittel gegen *Atta texana*. 188
 —, — — *Pogonomyrmex barbatus molefaciens*. 188
 —, Saatgutbehandlung zur Bekämpfung von *Etiella zinckenella schisticolor*. 207
 —, — — — *Pegomyia planipalpis*. 207
 Schwefelkohlenstoff-Nikotin-Schmierseifenbrühe, Bekämpfungsmittel gegen Traubenwickler. 209
 Schwefelwasserstoff, Bodenbehandlung zur Bekämpfung von *Rhizoctonia violacea*. 154
 Schweinfurtergrün, Bekämpfungsmittel gegen *Otiorynchus singularis*. 129
 Schweiz, Cordycepsarten. 111
 —, Reblausbekämpfung. 574
 —, Verbreitung von *Sphaerotheca morsuvae*. 132
Scirpus caespitosus, abnorme Ährchenbildung. 157
 — lacuster, Schädigung durch *Sclerotinia scirpicola*. 120
Scleroderma, Vorkommen von *Boletus parasiticus*. 120
Sclerophoma simplex n. sp., Schädling von *Frangula alnus*. 99
Sclerospora graminicola, Schädling von *Panicum viridis*. 108
Sclerotinia baccarum, Schädling der Heidelbeere. 135
 — curreyana, Vorkommen von *Sphacelia curreyana*. 104
 — libertiana, Schädling von *Panax quinque-folium*. 125
 — panacis, Schädling von *Panax quinque-folium*. 125
 — scirpicola, Entwicklung. 120
 — —, Schädling von *Scirpus lacuster*. 120
 — —, Zugehörigkeit von *Sphacelia scirpicola*. 120
 — trifoliorum, Schädling von Klee. 152
Sclerotium roseum, Identität mit *Sclerotinia scirpicola*. 120
Scolecnectria, Existenzberechtigung. 599
Scopaeus frater, Vorkommen von *Corethromyces scopaei*. 115
 — laevis, Vorkommen von *Zeugandromyces australis*. 115
Scrophularia canina, Ambrosiagalle, Vorkommen von *Macrophoma*. 46
 — nodosa, Pelorienbildung. 157
Scymnus punctum natürlicher Feind von *Bryobia pratensis*. 152
 — sordidus, natürlicher Feind von Schildläusen. 206
Secale cereale, Schädigung durch *Tilletia secalis* in Böhmen. 100
 — —, — — *Urocystis occulta* in Böhmen. 100
 Seeland, Vorkommen von *Pityogenes elongatus*. 142
Selenothrips decolor, Schädling vom Kakao-baum. 132
 — rubrocinctus, Schädling vom Kakao-baum. 132
 Sellerie, Wirkung der Trockenheit. 177
Sempervivum hausmannii, Pressaft, Vorkommen bakterizider Stoffe. 619
Septobasidium protractum n. sp., Schädling von Akazien. 110

- Septogloeum cydoniae*, Schädling von *Cydonia vulgaris*. 102
 — *mori*, Schädling von *Morus*. 102
 —, Vorkommen auf fußkrankem Weizen. 64
 — *asclepiadicola*, Schädling von *Asclepias tuberosa*. 103
 — *carricerae* n. sp., Schädling von *Oplismenus hirtellus*. 96
 — *citri*, Schädling von *Citrus limonum*. 102
 — *lycopersici* var. *europaea*, Schädling von *Solanum lycopersicum*. 103
 — *agnospora* n. sp., Schädling von *Prunus fremontii*. 109
 — *mirabilissima* n. sp., Schädling von *Pinus strobus*. 109
 — *nigerrima*, Vorkommen auf Birnbaumblättern. 64
 — *petroselinii* var. *apii*, Schädling von *Apium graveolens*. 102
 — *phytolaccae*, Schädling von *Phytolacca decandra*. 103
 — *populi*, Schädling von *Populus nigra*. 102
 — *tritici*, Schädling vom Weizen. 102
 — *zizyphi*, Schädling von *Zizyphus vulgaris*. 102
 Serbien, Reblausbekämpfung. 575
 Serin, Vorkommen in Cheddarkäse. 90
Serratula, Schädigung durch *Puccinia schirajewskii*. 105
Sesbania aegyptiaca, Schädigung durch *Lecanium discrepans*. 186
Sesia annellata, Schädling von *Ballota nigra*. 151
 — *empiformis*, Schädling von *Euphorbia esula*. 151
 Siebenbürgen, parasitische Pilze. 101
Silene inflata, Schädigung durch *Uromyces behenis*. 102
Siphocoryne xylostei, Gallenbildung an *Lonicera caprifolium*. 165
 — — — *Lonicera italica*. 165
 — — — *Lonicera periclymenum*. 165
 — — — *Lonicera sempervirens*. 165
Siphonophora absinthii, Eindringen des Borstenbündels in die Wirtspflanze. 273
 — —, Verlauf des Stichkanals. 298
 — *cerealis*, Schädling von Hafer. 102
 — *citrifolia*, Bekämpfung mit Tabakseifenbrühe. 214
 — *rosae*, Eindringen des Borstenbündels in die Wirtspflanze. 273
 — —, Verlauf des Stichkanals. 298
Sirocyphis nivea n. gen. et n. sp., Schädling von *Pedicularis racemosa*. 108
Sirodotis populi n. gen. et n. sp., Schädling von *Populus tremuloides*. 108
Smilax, Gallenbildung durch *Cryptothrips intorquens*. 162
 — *medica*, Schädigung durch *Glomerella cingulata*. 113
Solanum lycopersicum, Schädigung durch *Fusarium*. 103
Solanum lycopersicum, Schädigung durch *Macrosporium*. 103
 — — — *Phytophthora infestans*. 102
 — — — *Septoria lycopersici* var. *europaea*. 103
Solanum seaphorthianum, Schädigung durch *Aleyrodes trachoides*. 187
 — *tuberosum*, Knöllchenfäule durch *Bacillus mensentericus*. 613
 — —, Schädigung durch *Phytophthora infestans*. 103
Solidago canadensis, Schädigung durch *Coleosporium solidaginis*. 108
 — *virgaurea*, Gallenbildung durch *Aphiden*. 170
Sorbus aria, Schädigung durch *Argyresthia*. 191
Sorghum halepense, Schädigung durch *Fusicladium sorghi*. 103
Sorosphaera veronicae, Schädling von *Veronica chamaedris*. 103
Sorosporium, Vorkommen in Böhmen. 100
 Spanien, Reblausbekämpfung. 574
 Spargelkäfer, *Tetrastichus asparagi* natürlicher Feind. 215
Spatholobus, Gallenbildung durch *Cryptothrips fuscipennis*. 162
Sphacelia curreyana n. sp., Vorkommen auf *Sclerotinia curreyana*. 104
 — *scirpicola* n. sp., Zugehörigkeit zu *Sclerotinia scirpicola*. 120
Sphaelotheca hydropiperis, Schädling von *Persicaria*. 103
 — *panici miliacei*, Schädling von *Panicum miliaceum* in Böhmen. 99
Sphaerella, Zugehörigkeit von *Gloeosporium*. 119
 — *macularis*, Aufteilung. 144
 — —, Schädling von *Populus tremula*. 144
 — *tremulicola*, Synonymie. 144
Sphaeropsis coccolobae n. sp., Schädling von *Coccoloba uvifera*. 96
 — *malorum*, Schädling von *Pirus communis*. 102
 — *rhodocarpa* n. sp., Schädling von Rosen. 96
Sphaerotheca castagnei, metachromatische Körperchen. 77
 — *mors uvae*, Gesetz zur Verhütung der Einschleppung nach Kanada. 199
 — — —, Konidienbildung, Cytologie. 132
 — — —, Verbreitung in der Schweiz. 132
 — *pannosa*, Schädling von Rosen. 103
Sphaerotilus fluitans, Beschreibung. 91
 — *natans*, Beschreibung. 91
 — *roseus*, Beschreibung. 91
Sphaleromyces bruchi n. sp., Beschreibung. 116
Sphecius speciosus, natürlicher Feind der 17 Jahr-Zikade. 188
Sphegigaster orobanchiae, natürlicher Feind von *Phytomyza orobanchae*. 213
Spicaria bassiana s. *Botrytis bassiana*.

- Spicaria farinosa verticillioides*, Vorkommen auf Conchyliis. 210
 — — — — Polychrosis. 210
Spinat, Schädigung durch *Phoma spinaciae*. 99
Spinnmilben, Bekämpfung mit Schwefelkalkbrühe. 198
Spiraea ulmaria, Schädigung durch *Oidium erysiphoides*. 103
Spirogyra, Wirkung von Calciumhypochlorid auf die Entwicklung. 73
Sporodesmium lycium n. sp., Vorkommen in Böhmen. 101
Sporotrichum, Bekämpfungsversuche gegen Citrus-Mottenschildlaus. 206
 — *globuliferum*, natürlicher Feind von *Gastropacha pini*. 201
Stachelbeermeltau, Bekämpfung mit Schwefelkalkbrühe. 198
 —, amerikanischer, Bekämpfung mit Kupferkalkbrühe. 207
 —, —, — — Schwefelkalium. 207
Stachybotrys, Zugehörigkeit zu *Verticillaceen*. 81
Stärke, Verzuckerung durch *Glycobacter peptolyticus* und *G. proteolyticus*. 450
Stagonospora foliicola n. sp., Vorkommen in Böhmen. 101
Steinbrand des Weizens s. a. *Tilletia tritici*.
 — — —, Bekämpfung mit Formalin. 203
 — — —, — — Kupfervitriol. 203
Steinersches Mittel zur Bekämpfung der Kohlhernie. 207
Stenochlaena sorbifolia, Schutzvorrichtung gegen Vertrocknung. 177
Stenoma dissimilis, Schädling von *Cedra fissilis*. 139
Sterculia acerifolia, Gallenbildung durch *Bacterium tumefaciens*. 168
 — *diversifolia*, Gallenbildung durch *Bacterium tumefaciens*. 168
Sterculiaceen, Schädigung durch *Marumba sperchius*. 181
Stereum ferreum, Vorkommen. 109
 — *purpureum*, Bekämpfung. 206
 — —, Erreger des Milchglanzes der Pflaumenbäume. 131
 — *spadiceum*, Vorkommen. 94
Sterigmatocystis antacustica, Zugehörigkeit zu *Rhopalocystis*. 104
 — *carbonaria*, Zugehörigkeit zu *Rhopalocystis*. 104
 — *fusca*, Zugehörigkeit zu *Rhopalocystis*. 104
 — *niger*, Zugehörigkeit zu *Rhopalocystis*. 104
 — *nigra*, Fruktifikation, Wirkung der Transpiration. 78
 — *phacocephala*, Zugehörigkeit zu *Rhopalocystis*. 104
Sternblume, Vorkommen von *Gymnoascus confluens*. 111
Stichomyces catalinae n. sp., Vorkommen auf *Conosoma testaceum*. 115
 Stickstoff, Assimilation aus Rhodanverbindungen durch Schimmelpilze. 77
 — Bindung im Boden, antagonistische Wirkung von Salzen. 502
 —, — — — zu verschiedenen Jahreszeiten. 256
 —, — — —, Wirkung von Arsenverbindungen. 244
 —, Umsetzungen im Cheddarkäse. 90
Stictoccephala festina, Schädling vom Klee. 153
 — —, — von Luzerne. 153
 — *inermis*, Schädling von Klee. 153
 — —, — — Luzerne. 153
Stictomyia longicornis, Schädling von *Opuntia*. 151
Stictoccephala lutea, Schädling von Klee. 153
 — —, — — Luzerne. 153
Stigeoclonium, Wirkung von Calciumhypochlorid auf die Entwicklung. 73
Stigmatea cestri n. sp., Schädling von *Cestrum*. 109
Stigmatomyces anoplischii n. sp., Vorkommen auf *Anoplischius*. 115
Stilicis, Vorkommen von *Corethromyces armatus*. 115
 —, — — *Corethromyces brunneolus*. 115
 —, — — *Corethromyces pyamaeus*. 115
 — *elegans*, Vorkommen von *Corethromyces sigmoideus*. 115
 — —, — — *Corethromyces unoigerus*. 115
Stipa viridula, Schädigung durch *Puccinia substerilis*. 108
 Stippfleckigkeit der Äpfel. 126
Streptocarpus wendelandii, Regeneration. 161
Streptococcus lacticus, Aromabildung mit *Bacillus fluorescens* in Milch. 87
Streptokokken, Vorkommen in Cheddarkäse. 74
Striga lutea, Anatomie. 175
Strobophila n. gen., Untergattung von *Clinodiplosis*. 166
Succisa, Schädigung durch Blattwespen. 187
 Südafrika, Pilzflora, Beiträge. 109
 Sulfat, Bildung im Boden. 67
Symdobius macrostachyae n. sp., Schädling von *Salix macrostachya*. 184
 — *salicicortis* n. sp., Schädling von *Salix laevigata*. 184
Symphoricarpus, Schädigung durch *Phytomyza xylostei*. 181
 — *occidentalis*, Schädigung durch *Aecidium abundans*. 108
 — —, — — *Othia symphoricarpi*. 108
 — —, — — *Rosellinia pulveracea*. 108
 — —, — — *Zignella morthieri*. 108
Symphyosira rosea n. sp., Beschreibung. 110
Synandromyces geniculatus n. gen. et n. sp., Vorkommen auf *Telephanus*. 115

- Synandromyces telephani* n. gen et n. sp.,
 Vorkommen auf *Telephanus*. 115
Synaptomyces argentinus n. gen et n. sp.,
 Vorkommen auf *Hydrocharis*. 116
 Syrien, Pilzflora, Beiträge. 107
Syringa, Schädigung durch *Otiorhynchus*
rotundatus. 149

 Tabakextrakt, Bekämpfungsmittel gegen
Heliothrips haemorrhidalis. 212
 Tabakextraktseifenlösung, Bekämpfungs-
 mittel gegen *Myzus persicae*. 131
 Tabaksaft, Bekämpfungsmittel gegen Woll-
 läuse. 214
 Tabakseifenbrühe, Bekämpfungsmittel
 gegen *Aphis persicae-niger*. 214
 —, — — *Siphonophora citrifolia*. 214
Tachardia aurantiaca, Schädling von *Al-*
bizzia. 186
 —, — — *Flacourtia*. 186
Tachycines asynamorus, Einschleppung
 nach Rußland. 186
Tachys, Vorkommen von *Laboulbenia*
asperata. 115
Tamarix, Gallenbildung durch *Amblar-*
diella tamaricum. 166
 —, — — *Cecidomyia* (?) *debskii*. 166
 —, — — *Cecidomyia tamaricis*. 166
 —, — — *Perrisia* (?) *tamaricina*. 166
 —, — — *Psectrosema provincialis*. 166
 —, — — *Psectrosema tamaricis*. 166
Tanacetum vulgare, Gallenbildung durch
Rhopalomyia tanaceticola. 169
 Tanne, Schädigung durch *Agaricus melleus*.
 135
 —, — — *Argyresthia*. 191
 —, — — Frost. 136
 —, — — Trockenheit. 136
 —, Vorkommen von *Pissodes piceae*. 135
 —, — — *Criphalus piceae*. 135
 —, — — *Tomicus curvidens*. 135
Taonaba japonica, Schädigung durch *Aley-*
rodes taonabae. 128
Taphrina bullata, Bekämpfung mit Bor-
 deauxbrühe. 130
 —, —, Schädling vom Birnbaum. 130
 — deformans, Bekämpfung mit Bordeaux-
 Brühe. 130
 —, —, Schädling vom Pfirsichbaum. 130
Taphrorychus hirtellus, Fraßbilder. 190
Tarsonemus, Schädling von Quecke. 179
 Teakholz, Widerstandsfähigkeit gegen
 Hausschwamm. 95
Teichospora trimorpha n. sp., Schädling
 von *Populus*. 109
Teichospora callimorpha, Vorkommen.
 109
Telephanus, Vorkommen von *Synandro-*
myces geniculatus. 115
 —, — — *Synandromyces telephani*. 115
Tendipes plumosus s. *Chironomus plu-*
mosus.
Tenthrediniden, Gallenerzeugende Schle-
 siens. 169

Teratosphaeria n. gen., Schädling von
Protea grandiflora. 110
Tetrandromyces brachidae n. gen. et n. sp.,
 Vorkommen auf *Brachida reyi*. 115
Tetraneura ulmi, Gallenbildung an Ulme.
 169
Tetranychus Deutschlands. 183
Tetranychus telarius, Schädling der Quecke.
 179
 —, —, — des Weinstocks. 101
Tetrastichus asparagi, natürlicher Feind des
 Spargelkäfers, Biologie. 215
 — *coccinellae*, natürlicher Feind von *Coc-*
cinea septempunctata. 213
 — *sokolowskii*, natürlicher Feind von
Apantheles plutellae. 213
Thea japonica, Schädigung durch *Aley-*
rodes camelliae. 128
 —, —, — *Glomerella cingulata*. 113
 — *sinensis*, Schädigung durch *Glomerella*
cingulata. 113
Thecaphora, Vorkommen in Böhmen. 100
Theobroma cacao, Schädigung durch *Glo-*
merella cingulata. 113
Thielavia basicola, Schädling von *Panax*
quinguefolium. 125
Thinocharis exilis, Vorkommen von *Ectei-*
nomyces thinocharinus. 116
 Thiosulfat-Bakterien, denitrifizierende, Un-
 tersuchung. 402
 —, Verbreitung in verschiedenen Boden-
 arten. 407
Thiosecretus dorsatus, Schädling von *Al-*
hagi camelorum. 180
Thomasia crucis, Schädling von *Salix*
macrostachya. 184
 — *negundinis*, Schädling von *Negundo*
aceroides. 184
 — *populifoliae*, Schädling von *Populus*
fremonti. 184
 — *populicola*, Schädling von *Populus tri-*
chocarpa. 184
 — *salicicola*, Schädling von *Populus tri-*
chocarpa. 184
 —, —, — *Salix laevigata*. 184
 — *viminalis*, Schädling von *Salix*. 184
Thripoctenus russeli, natürlicher Feind von
Euthrips tritici. 212
 — *russeli*, natürlicher Feind von *Helio-*
thrips fasciatus. 212
 —, —, — — *Thrips tabaci*. 212
Thrips kroli n. sp., Gallenbildung an *Calluna*
vulgaris. 167
 —, —, — — *Melampyrum nemo-*
rosum. 167
 — *sacchari*, Gallenbildung. 163
 — *serratus*, Gallenbildung. 163
 — *tabaci*, *Thripoctenus russeli* natürlicher
 Feind. 212
 Thüringen, Flechtenflora, Beiträge. 110
Thuja occidentalis, Schädigung durch *Pleo-*
spora thujae. 104
 Thysanopteren Galiziens, Beiträge. 166
 —, Systematik. 163

- Thysanopterocecidien Javas. 162
Tilia europaea s. a. Linde.
 — —, Schädigung durch *Cryptostictella*
bractearum. 104
 — *platyphyllos*, Fasciation. 157
Tilletia corcontica n. sp., Schädling von
Calamagrostis halleriana. 100
 — *pančićii*, Schädling von *Hordeum* in
 Böhmen. 100
 — *secalis*, Schädling von *Secale cereale*
 in Böhmen. 100
 — *sphagni*, systematische Stellung. 100
 — *tritici* s. a. Weizen, Steinbrand.
 — —, Schädling von *Triticum vulgare* in
 Böhmen. 100
 — —, Wirkung auf die Gesundheit von
 Mensch und Tier. 123
 Tilletiineen Böhmens. 99
 Toluylsäure, Wirkung auf die Entwicklung
 von *Penicillium glaucum*. 652
Tolysporium, Vorkommen in Böhmen. 100
Tomicus chalcographus, Vorkommen an
 Fichten. 135
 — *curvidens*, Vorkommen an Tannen. 135
 — *micrographus*, Vorkommen an Fichten.
 135
Tomoderus forticornis, Vorkommen von
Autophagomyces nigripes. 115
 — —, — — *Autophagomyces platensis*.
 115
Torneuma karamani n. sp., Vorkommen in
 alten Olivenbäumen. 132
Tortrix buolina, Schädling der Bankskiefer.
 136
Torubiella tomentosa var. *citrina* n. var.,
 Vorkommen auf Cocciden. 108
Torula, Farbstoffbildung. 625. 632
 —, Vorkommen auf Apfelschalen. 625
 — *epizoa*, Zugehörigkeit zu *Oospora*. 82
 — *bombycis* f. *major* und f. *minor*, Vor-
 kommen auf *Gastropacha pini*. 201
 — *monilioides*, Fluß der Roßkastanie, Vor-
 kommen von *Diplogasteroides spengelii*.
 186
 — *rosea*, Wirkung von Gelatine verschie-
 dener Konzentration. 568
 — *rubefaciens* n. sp., Beschreibung. 638
Toruloides n. gen., Zugehörigkeit einiger
Oosporen. 79
 — *effusa* n. gen. et n. sp., Vorkommen. 79
 — *unangistii* n. gen. et n. sp., Vorkommen.
 79
Toxoptera muehlenbergia n. sp., Entwick-
 lung. 185
Trachyuropoda, Vorkommen von *Rickia*
megisthani var. *trachyuropodae*. 114
Tracya, Vorkommen in Böhmen. 100
Trametes cinnabarina, Schädling von *Prun-*
us avium. 103
 — *hispida*, Vorkommen am Schwarzen
 Meer. 139
 Transkaspien, Orthopteren. 180
 Transpiration, Bedeutung für die Frukti-
 fication der Pilze. 78
 Traubenwickler s. a. *Conchylis ambiguella*
 und Heu- u. Sauerwurm.
 —, Bekämpfung mit Schwefelkohlenstoff-
 Nikotin-Schmierseifenbrühe. 209
 —, Bekämpfungsversuche mit Arsenprä-
 paraten. 210
 — — — Layko-Trockenstaubpräparate.
 209
 — — — Nikotinpräparaten. 209
Trenomyces, Vorkommen auf *Nirmus mari-*
timus. 114
 — — — *Nirmus olivaceus*. 114
 — — — *Nirmus punctatus*. 114
 — *circinans*, Vorkommen auf *Docophorus*
californicus. 115
 — — n. sp., Vorkommen auf *Docophorus*
monteregi. 115
 — — — — — *Lipeurus baculus*. 115
 — *laemobothrii* n. sp., Vorkommen auf
Laemobothrium atrum. 115
 — *gibbus* n. sp., Vorkommen auf *Lipeurus*
longipilus. 115
 — *histophorus*, Vorkommen auf *Gonio-*
cotes. 114
 — — — — — *Menopon mesoleucum*. 114
 — *lipeuri* n. sp., Vorkommen auf *Lipeurus*
celer. 114
Tribremia n. gen. 162
Tricalysia, Schädigung durch *Hemileia*. 110
Trichamphora pezizoidea, Vorkommen. 109
Trichonectria aculeata, besser *Calonectria*
aculeata. 595
 — *bambusicola*, Zugehörigkeit zu *Calo-*
nectria. 595
Trichopsilla walkeri, Gallenbildung an
Rhamnus saxatilis. 170
Trichopteryx hordeiformis, Schädigung
 durch *Ustilago trichopterygis*. 114
Trichothecium, Vorkommen auf *Gastrop-*
acha pini. 201
Trichothecium roseum, Schädling von *Pirus*
communis. 101
Trifolium, Schädigung durch *Fusarium*.
 103
 — — — *Oidium erysiphoides*. 102
 — — — *Pseudopeziza trifolii*. 103
 — — — *Uromyces trifolii*. 103
 — *alpestre*, Schädigung durch *Zygaena*
meliloti. 152
 — *pratense* s. a. Klee.
 — — —, Gallenbildung durch *Apion ame-*
thystinum. 169
 — — —, Vorkommen von *Cythia trifolii*. 99
 — *repens*, Schädigung durch *Uromyces*
flectens. 98
 Trimethylamin, Vorkommen in Mais-
 brandsporen. 123
 Trioxybenzoesäure, Kohlenstoffquelle für
Penicillium glaucum. 649
Trioza acutipennis, Schädling von *Alchi-*
milla vulgaris. 189
 — *agrophila*, Schädling von *Cirsium ar-*
vense. 189
 — *albiventris*, Schädling von *Salix*. 189

- Trioza binotata*, Schädling von *Hippophaë rhamnoides*. 189
 — *cerastei*, Schädling von *Cerastium semidecandrum*. 189
 — — — *Cerastium triviale*. 189
 — *galii* Schädling von *Galium*. 189
 — *nigricornis*, Vorkommen. 189
 — *rhamni*, Schädling von *Rhamnus cathartica*. 189
 — *urticae*, Schädling von *Urtica dioica*. 189
 — — — *Urtica urens*. 189
 — *viridula*, Schädling von *Cerefolium silvestre*. 189
 — — — *Daucus*. 189
 — — — *Petroselinum sativum*. 189
Triticum s. a. Weizen.
 —, Schädigung durch *Ustilago tritici* in Böhmen. 99
 — *cristatum*, Schädigung durch *Ustilago trebouxii*. 106
 — *vulgare*, Schädigung durch *Tilletia tritici* in Böhmen. 100
Trochila, Zugehörigkeit von *Gloeosporium* und *Marssonina*. 119
 Trockenheit, Schädigung von Waldbäumen. 136
 —, Wirkung auf das Auftreten von Schädlingen. 177
 — — — Linden. 177
 — — — Schädigung des Weinstocks durch Sauerwurm. 177
 — — — die Vegetation. 177
Tropisternus, Vorkommen von *Ceratomyces intermedius*. 116
 — — — *Ceratomyces marginalis*. 116
 — — — *Ceratomyces rhizophorus*. 116
 — — — *Ceratomyces ventricosus*. 116
Trychyuropoda, Vorkommen von *Rickia arachnoidea*. 114
Trypeta stellata, Gallenbildung an *Matricaria inodora*. 168
Trypophloeus, Untersuchung. 190
 Trypsin, Wirkung auf peptische Spaltprodukte, Plasteinbildung. 84
 Tryptophan, Vorkommen in Cheddarkäse. 90
Tsuga canadensis, Infektion mit *Melampsora medusa* von *Populus grandidentata*. 117
 — — — *Pucciniastrum myrtilli* von *Vaccinium canadense*. 117
Tubercularia agaves n. sp., Schädling von *Agave*. 109
Tuberculina maxima, Vorkommen auf *Peridermium*. 142
 — *nomuriana n. sp.*, Schädling von *Astragalus sinicus*. 133
Tuberolachnus viminalis, Vorkommen in Californien. 184
 Tunis, Gallen an Cruciferen. 170
 Tubercinia, Vorkommen in Böhmen. 100
 Türkei, Reblausbekämpfung. 575
Tussilago farfara s. a. Huflattich.
Tussilago farfara, Schädigung durch *Coleosporium sonchi*. 103
 Tyrokasein, Vorkommen in Cheddarkäse. 90
 Tyrosin, Vorkommen in Cheddarkäse. 90
Ulmaria filipendula, Gallenbildung durch *Perrisia ulmariae*. 169
 Ulme, Gallenbildung durch *Schizoneura ulmi*. 169
 — — — *Tetraneura ulmi*. 169
 —, Schädigung durch den Salzgehalt der Luft. 137
 Ulmenholz, Zersetzung durch Hauschwamm. 95
Ulothrix, Wirkung von Calciumhypochlorid auf die Entwicklung. 73
 Umbelliferen, Schädigung durch Blattwespen. 187
Uncinula aceris, Schädling von *Acer*. 103
 Ungarn, Reblausbekämpfung. 575
 —, Vorkommen der amerikanischen Büffelizekade. 128
 — — — *Oidium quercinum*. 116
 — — — *Rhizoglyphus crassipes*. 154
 Unkraut, Samengehalt des Bodens. 179
 —, Wirkung der Trockenheit. 177
 —, Verzeichnis der im Gouv. Wladimir vorkommenden. 179
 Uredineen s. a. Rostpilze.
 —, Teleutosporien, Keimungsbedingungen. 698
Uredinopsis mirabilis, Übertragung von *Onoclea sensibilis* auf *Abies balsamea*. 117
 — *phegopteridis*, Übertragung von *Phegopteris* auf *Abies balsamea*. 117
 — *struthiopteridis*, Übertragung von *Onoclea struthiopteris* auf *Abies balsamea*. 117
Uredo alpestris, Überwinterung mit Uredosporen. 118
 — *olivacea*, Zugehörigkeit zu *Elatomyces n. gen.* 100
 — *scheffleri n. sp.*, Schädling von *Capparidaceen*. 118
Urocystis corydalis, Schädling von *Corydalis cava*. 100
 — —, Zugehörigkeit zu *Entyloma urocystoides*. 100
 — *lagerheimii n. sp.*, 100
 — *leucoji n. sp.*, Schädling von *Leucojum vernum*. 101
 — — — —, Unterschied von *U. colchici*. 101
 — *occulta*, Schädling von *Secale cereale* in Böhmen. 100
Uromyces ambiguus, Schädling von *Allium*. 98
 — *appendiculatus*, Schädling von *Phaseolus nanus*. 108
 — *behenis*, Schädling von *Silene inflata*. 102
 — *caryophyllinus*, Schädling von Nelken. 103

- Uromyces ceratocarpi* n. sp., Schädling von *Ceratocarpus arenarius*. 106
 — *cestris* var. *maculans* n. var., Schädling von *Cestrum*. 109
 — *dactylidis*, Schädling von *Dactylis glomerata*. 121
 — *flectens*, Schädling von *Trifolium repens*. 98
 — *kochiae* n. sp., Schädling von *Kochia prostrata*. 106
 — *lilii*, Schädling von *Lilium candidum*. 98
 — *loti*, Schädling von *Lotus corniculatus*. 98
 — *orientalis* n. sp., Schädling von *Indigofera linifolia*. 118
 — *renovatus*, Schädling von *Lupinus hirsutus*. 107
 — *scirpi*, Schädling von *Oenanthe crocata*. 103
 — *striatus*, Schädling von *Medicago sativa*. 103
 — *trifolii*, Schädling von *Trifolium*. 103
Uropyxis amorphae, Schädling von *Amorpha canescens*. 108
 — *petalostemontia*, Schädling von *Kunistera candida*. 108
Urtica dioica, Schädigung durch *Psylliodes attenuata*. 156
 — — — *Psylliodes punctatula*. 156
 — — — *Trioza urticae*. 189
 — —, Sporenbildung von *Rhizoctonia violacea* an derselben. 154
 — *urens*, Schädigung durch *Trioza urticae*. 189
 Uruguay, Heuschreckenplage, Bekämpfung. 215
Ustilagineen Böhmens. 99
Ustilaginoides virens, Schädling von Reis. 124
Ustilago avenae s. a. Hafer, Flugbrand.
 — —, Schädling von *Avena sativa* in Böhmen. 99
 — —, — vom Hafer. 102
 — — var. *levis*, Schädling von *Avena sativa*. 108
 — *hordei*, Schädling von *Hordeum distichum* in Böhmen. 99
 — *ischaemi*, synonym mit *Sphacelotheca andropogonis*. 100
 — *laevis*, Schädling von *Avena sativa* in Böhmen. 99
 — *maydis* s. a. Maisbrand.
 — —, chemische Untersuchung. 123
 — —, Schädling von Mais. 102
 — *nuda* s. a. Gerste, Flugbrand.
 — —, Schädling von *Hordeum distichum* in Böhmen. 99
 — *osmundae* var. *cinnamomeae* n. var., Zugehörigkeit zu *Mycosyrinx*. 109
 — *panici miliacei*, Schädling von *Panicum miliaceum*. 108
 — *paradoxa* n. sp., Schädling von *Panicum frumentaceum*. 118
Ustilago polytriadis n. sp., Schädling von *Polytrias praemorsa*. 114
 — *trebouxii* n. sp., Schädling von *Melica ciliata*. 106
 — — —, — — *Triticum cristatum*. 106
 — *treubii*, Zugehörigkeit zu *Elateromyces*. 100
 — *trichopterygis* n. sp., Schädling von *Trichopteryx hordeiformis*. 114
 — *tritici* s. a. Weizen, Flugbrand.
 — —, Schädling von *Triticum* in Böhmen. 99
 — — — Weizen. 101
 — *vastatoria* n. sp., Schädling von *Panicum*. 114
 — *zeae* mays, Schädling von *Zea mays* in Böhmen. 99
Vaccinium canadense, Übertragung von *Pucciniastrum myrtilli* auf *Tsuga canadensis*. 117
 — *myrtilus*, Schädigung durch *Podosphaera myrtillina*. 135
 — —, Wirkung von Trockenheit. 177
Vaginata agglutinata, Abbildung. 120
 Valin, Vorkommen in Cheddarkäse. 90
 Vallota, Schädigung durch *Merodon equestris*. 148
Valsa cincta var. *rubicola* n. var., Vorkommen in Böhmen. 101
Vanilla planifolia, Schädigung durch *Glomerella cingulata*. 113
Varichaeta, *Perilampus hyalinus* Parasit. 212
 Vaselineöl, Aufnahme durch Balsaminen. 196
Vaucheria, Wirkung von Calciumhypochlorid auf die Entwicklung. 73
Velia platensis, Vorkommen von *Laboulbenia hemipteralis*. 115
 — — — *Laboulbenia veliae*. 115
Venenarius muscarius, Abbildung. 120
Venturia braunii n. sp., Vorkommen im Berninagebiet. 105
 — *longisetosa* n. sp., Vorkommen im Berninagebiet. 105
Veratrum viride, Schädigung durch *Cercospora terminalis*. 109
Verbascum, Ambrosiagalle, Vorkommen von *Macrophoma*. 46
 Vereinigte Staaten, Pilzflora, Beiträge. 109
 — —, Rostpilze auf *Carex*-Arten. 121
 — —, Zuckerrohrschädlinge. 125
Vermicularia hysteriiformis n. sp., Schädling von *Caulophyllum thalictroides*. 109
 Verkrausung des Weinstocks, chemische Untersuchung. 133
Veronica biloba, Schädigung durch *Schroeteria bornmülleri*. 107
 — *chamaedrys*, Schädigung durch *Sorosphaera veronicae*. 103
 — *tournefortii*, Wirkung von Trockenheit. 177

- Verticillaceen, Zugehörigkeit von *Gonatobotryum*. 81
 —, — — *Stachybotrys*. 81
Verticillium, Vorkommen auf *Gastropacha pini*. 201
 — *heterocladium*, Vorkommen auf *Conchylis*. 210
Viburnum opulus, Verlauf des Stichkanals an *Aphis viburni*. 298
Vicia, Schädigung durch *Ascochyta pisi*. 103
 —, — — *Cladosporium*. 103
 —, — — *Macrosporium*. 103
 — *cracca*, Gallenbildung durch *Apion seniculi*. 169
Vicia faba, Schädigung durch *Cercospora zonata*. 103
Viola hirta, Schädigung durch *Mycosphaerella violae*. 105
 — *odorata*, Schädigung durch *Ramularia lactea*. 102
Vitis labrusca, Schädigung durch *Glomerella cingulata*. 113
 — *silvestris*, Schädigung durch *Cuscuta lupuliformis*. 133
 — —, — — *Eriophyes vitis*. 133
 — —, — — *Plasmopara viticola*. 133
Volutella gossypina n. sp., Vorkommen auf abgefallenen Blättern. 108
Volvaria volvacea, Schädling von *Morus*. 103
- Wacholder s. a. *Juniperus communis*.
 —, Schädigung durch *Argyresthia*. 191
 Waldbäume, Schädigung durch Frost. 136
 —, — — Trockenheit. 136
 Wallis, Cryptogamenflora, Beiträge. 104
 Walnußholz, gemeines, Zersetzung durch Hausschwamm. 95
 —, schwarzes, Widerstandsfähigkeit gegen Hausschwamm. 95
 Wasser, Allgemeinentwicklung, Wirkung von Calciumhypochlorid. 73
 —, bakteriologische Untersuchung. 70
 —, Kleinplankton, Beziehung zum Chemismus. 90
 —, Selbstreinigung. 92
 Weide s. a. *Salix*.
 —, Gallenbildung durch *Eriophyes tetanotrix*. 169
 —, — — *Pontania proxima*. 169
 —, Schädigung durch *Argyresthia*. 191
 —, Übertragung von Apfelmistel. 176
 Weinprotease, Beziehung zur Traubenreife. 480
 —, Verhalten bei der Gärung. 498
 —, Wirkung verschiedener Chemikalien. 495
 Weinsäure, Wirkung auf Hefe. 532
 Weinstock, Graufäule. 134
 —, Kräuselkrankheit, Bekämpfung mit Polysulfidlösung. 209
 —, Mehltau, Bekämpfung mit Kupferbrühe. 211
- Weinstock, Roncetkrankheit, anatomische Untersuchung. 133
 —, Schädigung durch *Aleyrodes taenabae*. 128
 —, — — *Anthispila rivillei*. 101
 —, — — *Botrytis cinerea*. 102
 —, — — *Cercospora viticola*. 101
 —, — — *Cladosporium viticolum*. 102
 —, — — *Conchylis ambiguella*. 102
 —, — — *Coniothyrium diplodiella*. 101
 —, — — *Cuscuta*. 102
 —, — — *Haltica ampelophaga* in der Gironde. 210
 —, — — *Oidium tuckeri*. 101
 —, — — *Perrisia oenophila*. 102
 —, — — *Phyllosticta vitis*. 101
 —, — — Sauerwurm, Wirkung der Trockenheit. 177
 —, — — *Tetranychus telarius*. 101
 —, Schädlinge, *Zicrona coerules* natürlicher Feind. 211
 —, schlechte Bewurzelung bei Neubeimpflanzung alter Weinberge. 208
 —, Traubenreife, Beziehung zum Vorkommen von Weinprotease. 480
 —, Verkräuselung, anatomische Untersuchung. 133
 —, Züchtung widerstandsfähiger Sorten. 208
 Weißbuche, Bedeutung für das Auftreten von *Boletus rugosus*. 120
 Weißdorn, Schädigung durch *Argyresthia*. 191
 —, — — Blattwespen. 187
 Weizen s. a. *Triticum*.
 —, Ertrag einiger schwedischer Sorten. 121
 —, Flugbrand, Bekämpfung mit Heißwasser. 203
 —, fußkranker, Vorkommen von *Alternaria tenuis*. 64
 —, —, — — *Ascochyta*. 64
 —, —, — — *Cladosporium herbarum*. 64
 —, —, — — *Fusarium rubiginosum*. 64
 —, —, — — *Hendersonia herpotricha*. 64
 —, —, — — *Leptosphaeria tritici*. 64
 —, —, — — *Ophiobolus herpotrichus*. 64
 —, —, — — *Septoria*. 64
 —, Schädigung durch *Alternaria*. 102
 —, — — *Calandra granaria*. 101
 —, — — *Cladosporium herbarum*. 102
 —, — — *Claviceps purpurea*. 101
 —, — — Drahtwürmer. 212
 —, — — *Forda formicaria*. 182
 —, — — *Puccinia graminis*. 101
 —, — — *Septoria tritici*. 102
 —, — — *Ustilago tritici*. 101
 —, Steinbrand, Bekämpfung mit Formalin. 203
 —, —, — — Kupfervitriol. 203
 —, steinbrandhaltiger, gesundheitsschädlich. 123
 —, Züchtung rostwiderstandsfähiger Sorten. 204
 Werre, Bekämpfung. 215

- Westpreußen, Flechtenflora, Beiträge. 110
 Weymouthskiefer, Schädigung durch *Peridermium pini* f. *corticola*. 138
 —, — — *Rhizoctonia strobili*. 138
 —, — — Trockenheit. 136
 Wiesesalz, Wert als Holzkonservierungsmittel. 198
 Wildverbiß an Kiefern, Verhütung. 200
 —, Schutz der Obstbäume. 204
 Wolläuse, Bekämpfung mit Tabaksaft. 214
 —, Schädlinge von *Amaryllis*. 214
 —, — — *Opuntia*. 214
 —, — — *Phyllokakteen*. 214

Xantholinus andinus, Vorkommen von *Monoicomyces infuscatus*. 115
Xylaria tentaculata, Entwicklung. 112
Xyloterus lineatus, Vorkommen an Fichten. 135

 Yoghurt, chemische Zusammensetzung. 451
 —, Herstellung in Bulgarien. 452
 —, Kontrolle, serodiagnostische Methode. 467

Yucca elephantipes, Schädigung durch *Epicoccum asterinum*. 109

Zea mays s. a. Mais.
 — —, Schädigung durch *Ustilago zeae mays* in Böhmen. 99
 Zellulose, Hydrolyse, Nachweis. 93
 —, Vergärung durch Bakterien. 93
 Zellulosedextrinase, Vorkommen in *Merulius lacrymans*. 93
Zeugandromyces australis n. gen. et n. sp., Vorkommen auf *Scopaeus laevis*. 115
Zicrona coerulea natürlicher Feind von *Adimonia capreae*. 211
 — — — *Conchylis*. 211

Zicrona coerulea, natürlicher Feind von *Galerucella luteola*. 211
 — — — — *Haltica ampelophaga*. 211
 — — — — *Phaedon*. 211
 — — — — *Plagiodera*. 211
 — — — — Weinstockschädlingen. 211

Zignella morthieri, Schädling von *Symphoricarpos occidentalis*. 108
Zignoella buettneri, Vorkommen. 109
 Zikade, 17 Jahr-, Auftreten und Bekämpfung. 188
 Zitronensäure, Wirkung auf Hefe. 532
Zizyphus vulgaris, Schädigung durch *Cladosporium zizyphi*. 102
 — — — — *Phyllosticta zizyphi*. 102
 — — — — *Septoria zizyphi*. 102
Zoophagus insidians n. gen. et n. sp., fleischfressend. 81
Zopfia boudieri n. sp., Vorkommen an *Ligustrum vulgare*. 111
 — *rhizophila*, Vorkommen an *Asparagus*. 111
 Zuckerrohr, Insektenschädlinge, Verschleppung. 124
 Zuckerrübe s. a. Beta.
 —, Schädigung durch *Conorhynchus lui-gionii*. 155
 Zweigabstecher, Bekämpfung. 205
 Zwergzikade, Bekämpfung. 201
 Zwiebel, Nachweis peptolytischer Fermente 84

Zygaena meliloti, Schädling von *Trifolium alpestre*. 152
Zygorhynchus heterogamus, Zygosporienbildung. 82
 — *moelleri*, Vorkommen in Michigan. 82
 — —, Zygosporienbildung. 82

III. Verzeichnis der Abbildungen.

- Acremonium alternatum*, Konidien. (Fig. 4, 5, 8.) 54, 58
 — —, Perithezienanlage (?). (Fig. 9.) 60
 Arsenverbindungen, Wirkung auf Stickstoffbindung im Boden. 247
Artemisia absinthium, Blattlausstich. (Taf. II, Fig. 15 und 24.) 335
Azotobacter beijerinckii, Kultur. (Taf. I, Fig. 5—15; Taf. II, Fig. 16—19.) 7. 8
 — *chromococcum* Kultur. (Taf. I, Fig. 1—4; Taf. II, Fig. 25—28.) 7. 8
 — *vinelandii*, Kultur. (Taf. II, Fig. 20, 21.) 8
 — *vitreum*, Kultur. (Taf. II, Fig. 22—24.) 8
Bacillus asterosporus, Knollenfäule der Kartoffel. 617

Bacillus bulgaricus, Kolonien. (Fig. 1—3.) 457
 — *danicus*, Kultur. (Taf. II, Fig. 29, 30) 8
 — *subtilis*, Kultur auf Gelatine verschiedener Konzentration. 565
Bacterium fluorescens, Kultur auf Gelatine verschiedener Konzentration. 563
 — *prodigiosum*, Kultur auf Gelatine verschiedener Konzentration. 560
 — *typhi*, Kultur auf Gelatine verschiedener Konzentration. 564
 — *violaceum*, Kultur auf Gelatine verschiedener Konzentration. 562
 —, Entwicklung auf Agar mit verschiedenem Zuckergehalt (Kurven). 355. 356. 357
 Blattläuse, Anreicherungen von Gerbstoffen in angestochenen Zellen. 276. 316

Blattläuse, Durchbohren mehrerer Zellagen. (Fig. 1.)	274	Luzerne, mit Milchsäurebakterien eingesäuerte.	264
—, Gefäßdurchbohrung. (Fig. 4; Taf. II, Fig. 16.)	302. 335	<i>Micrococcus litoralis</i> . (Fig. 1.)	400
—, Stichkanal Bedeutung der Kristallbehälter der Pflanzen.	320	— — <i>gadidarum</i> . (Fig. 2.)	400
—, Stichkanal durch eine Knospe.	303	<i>Ophiobolus herpotrichus</i> , Dauermycel. (Fig. 3.)	53
—, —, Verzweigungen.	290	— —, Sporenkeimung. (Fig. 1, 2, 6, 7.)	51. 52. 55. 57
Boden, Bakteriengehalt zu verschiedenen Jahreszeiten (Kurven).	513. 515	<i>Ribes rubrum</i> , Blattlausstich. (Taf. II, Fig. 20.)	335
—, Protozoengehalt (Kurven).	394. 395.	<i>Rosa</i> , Blattlausstiche. (Taf. I, Fig. 6; Taf. II, Fig. 14, 18 und 25.)	334
—, Stickstoffbindung, Wirkung von Arsenverbindungen. (Kurven.)	247	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , Kultur auf Gelatine verschiedener Konzentration.	567
<i>Evonymus</i> , Blattlausstiche. (Taf. I, Fig. 1—5, 7—11, 13; Taf. II, Fig. 16, 17, 19, 21—23.)	334	<i>Sambucus</i> , Blattlausstich. (Taf. I, Fig. 12.)	334
<i>Hyalopus heterosporus</i> n. sp., Konidienbildung. (Fig. 1—14.)	28. 29	<i>Torula rosea</i> , Kultur auf Gelatine verschiedener Konzentration.	569
— — — —, Konidienkeimung. (Fig. 15 —24.)	31	— <i>rubefaciens</i> n. sp., Kultur. (Fig. 1—8.)	626—629. 631. 632
— — — —, Konidienträger. (Taf. I, Fig. 1—7.)	45	Yoghurt, Bakterien.	456
— — — —, Kultur. (Fig. 25.)	34		

IV. Neue Literatur.

378. 444. 718

Fürstlich priv. Hofbuchdruckerei (F. Mitzlaff) Rudolstadt.

**THIS BOOK IS DUE ON THE LAST DATE
STAMPED BELOW**

AN INITIAL FINE OF 25 CENTS

**WILL BE ASSESSED FOR FAILURE TO RETURN
THIS BOOK ON THE DATE DUE. THE PENALTY
WILL INCREASE TO 50 CENTS ON THE FOURTH
DAY AND TO \$1.00 ON THE SEVENTH DAY
OVERDUE.**

Book Slip-10m-8,'51(6813s4)458

81927		OR1
zen. f. bakt.		Z4
		Abt.2
		v.42

21.11.19

21.11.19
21.11.19
21.11.19
21.11.19

81927

PAGE NOT AVAILABLE

PAGE NOT AVAILABLE

PAGE NOT AVAILABLE

